

# **Morphologische Untersuchungen an Pferde Zähnen mittels Mikrocomputertomographie**

INAUGURAL – DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Lauritz Martin Englisch**



Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Carsten Staszyk

# **Morphologische Studien am Pferdegebiss mittels Mikrocomputertomographie**

INAUGURAL – DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
**Lauritz Martin Englisch**  
Tierarzt aus Nürnberg

Gießen, 2018

**Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

Klinik für Kleintiere, Chirurgie

Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. C. Staszyk

Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie

Justus-Liebig-Universität Gießen

Prof. Dr. med. vet. Michael Röcken

Klinik für Pferde, Chirurgie

Justus-Liebig-Universität Gießen

Tag der Disputation: 15.06.2018



Für Christian

*Dem Auge so fern, dem Herzen ewig nah.*



## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Publikation I .....</b>	<b>5</b>
<b>3 Publikation II .....</b>	<b>26</b>
<b>4 Übergreifende Diskussion .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1 Der Einsatz von <math>\mu</math>-Computertomographie in der Veterinärmedizin .....</b>	<b>47</b>
<b>4.2 Morphologische Aspekte .....</b>	<b>49</b>
<b>4.2.1 Morphologische Aspekte der Substanzverteilung in equinen         Backenzähnen.....</b>	<b>49</b>
<b>4.2.2 Morphologische Aspekte der Pulparaumkonfiguration und der         Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und labialis in equinen         Schneidezähnen.....</b>	<b>53</b>
<b>4.3 Fazit.....</b>	<b>56</b>
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>58</b>
<b>6 Summary .....</b>	<b>61</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>64</b>
<b>8 Publikationsverzeichnis .....</b>	<b>71</b>
<b>9 Erklärung.....</b>	<b>73</b>
<b>10 Danksagung.....</b>	<b>74</b>





## 1 Einleitung

Die Anfänge von anatomischen Beschreibungen am Pferdegebiss reichen teilweise mit „zoologischen Schriften über das Pferd“ von Simon von Athen und „Historia animalium“ von Aristoteles bis 480 v. Chr. beziehungsweise 350 v. Chr. zurück (Aristoteles, 350 v. Chr.; Simon von Athen, 480 v. Chr.; Easley, 2011). Mit der voranschreitenden Entwicklung der veterinärmedizinischen Lehre über die letzten drei Jahrhunderte, gingen auch weitere Studien am Gebiss des Pferdes bezüglich der Anatomie und Pathologie einher. So beschrieben 1859 Günther und Günther in „Die Beurtheilungslehre des Pferdes“ das Pferdegebiss mit gezeichneten Diagrammen detailliert (Günther und Günther, 1859; Fahrenkrug, 2005; Easley, 2011). Einen bedeutenden Anteil an der Forschung bezüglich des Pferdegebisses hatte der an der Tierklinik Sarstedt bei Hannover tätige Dr. Erwin Becker (Fahrenkrug, 2005). Er beschäftigte sich in den 20er und 30er Jahren des letzten Jahrhunderts nicht nur eingehend mit der Anatomie, sondern auch mit den Erkrankungen und der Entwicklung von speziellem Instrumentarium zur weiteren Therapie und Diagnostik (Kunkemöller, 2001). Neben generellen makroskopischen Beschreibungen benutzte er hierbei Gipsabdrücke zur Veranschaulichung von Erkrankungen des Pferdegebisses (Becker, 1938; Kunkemöller, 2001). Diese aus der Humanzahnmedizin entlehnte Technik stellte ein Novum zu damaliger Zeit in der Veterinärmedizin dar (Kunkemöller, 2001). In den letzten Jahrzehnten folgten weitere zahlreiche Studien bezüglich der Anatomie und Pathologien von Pferde Zähnen. Hierbei ermöglichte die weitere Entwicklung in der Bildgebung (Röntgen, Computer- und Magnetresonanztomographie) nicht nur entscheidende Fortschritte in der Diagnostik und Therapieansätze bezüglich der Erkrankungen des Pferdegebisses, sondern eröffnete auch neue Möglichkeiten für anatomische Studien. So erfolgten Studien am Pferdegebiss mittels Röntgenaufnahmen (Dixon und Copeland, 1993; Hoppe et al., 2004). Ferner beschäftigten sich weitere Autoren mit den einzelnen Zahnschmelz, Dentin und Zement (Kilic et al., 1997a, 1997b, 1997c, 1997d). Für diese detaillierten Untersuchungen an den Substanzen benutzen Kilic et al. Raster- und Transmissionselektronenmikroskope (Kilic et al., 1997a, 1997b, 1997c, 1997d). Außerdem verwendete die Arbeitsgruppe um Muylle et al.

Elektronenmikroskope für Untersuchungen der Zahnschubstanz an equinen Schneidezähnen (Muyllle et al., 2001). Die Benutzung von Elektronenmikroskopen ermöglichte somit erstmalig die Beschreibung der Mikrostrukturen der Zahnschubstanzen von equinen Backen- und Schneidezähnen. Die Computertomographie (CT) wurde bei mehreren Studien als Methode der Wahl eingesetzt. So wurden mittels CT Aufnahmen infektiöse Erkrankungen der Backenzähne beim Pferd beschrieben (Dacre et al., 2008a; Bühler et al., 2014; Casey et al., 2015), außerdem erfolgten auch allgemeine anatomische Beschreibungen am Pferde- und Eselgebiss (Du Toit et al., 2008a; Dacre et al., 2008b; Liuti et al., 2017). Des Weiteren konnten mittels CT Aufnahmen 3D Modelle der Pferdeschädel rekonstruiert werden und erlaubten so das Vermessen der Kauflächenwinkel an equinen Backen- und Schneidezähnen (Listmann et al., 2016; Listmann et al., 2017). Mit dem Einsatz von Mikrocomputertomographie ( $\mu$ CT) konnte die Auflösung der zu untersuchenden Objekte gegenüber der konventionellen CT nochmals drastisch gesteigert werden. Der Einsatz von  $\mu$ CT kam somit auch in der Veterinärmedizin, speziell für Untersuchungen am Pferdegebiss zur Anwendung. So wurden mittels  $\mu$ CT Aufnahmen 3D Modelle der equinen Schneidezähne konstruiert und komplexe Druckbelastungen auf den Zahnhalteapparat (Schrock et al., 2013a; Schrock et al., 2013b) simuliert und ferner altersabhängige Änderungen in deren Morphologie beschrieben (Schrock et al., 2013c). Auch im equinen Backenzahnbereich wurde auf  $\mu$ CT Aufnahmen zur Untersuchung zurückgegriffen. So wurden Studien an der Konfiguration der Zahnpulpa (Kopke et al., 2012) und an den Infundibula (Suske et al., 2016a; Suske et al., 2016b) veröffentlicht. Der Einsatz von  $\mu$ CT Aufnahmen in der Veterinärmedizin erwies sich hierbei als eine geeignete Methode, um auch komplexe Fragestellungen zu beantworten und detaillierte, morphologische Studien speziell am Pferdegebiss durchzuführen. Obwohl das Interesse an der Pferde Zahnheilkunde in den letzten 20 Jahren deutlich gestiegen ist (Dixon und Nicholls, 2016), bleiben noch viele Fragestellungen unbeantwortet. Das Pferdegebiss ist morphologisch durch hypsodonte Zähne gekennzeichnet. Die Krone hypsodonter Zähne ist im Vergleich zur Zahnwurzel relativ lang (Staszyk, 2011). Diese bis über 10 cm lange Zahnkrone (Staszyk, 2015) lässt sich beim Pferd in eine klinische Zahnkrone (sichtbar in der Maulhöhle) und eine Reservekrone (im Alveolarfach verborgen) aufteilen (Staszyk, 2015). Ein Kennzeichen der hypsodonten

Zähne im Pferdegebiss ist der kontinuierliche Abrieb durch Attrition (Zahn zu Zahn Kontakt) und Abrasion (Zahn zu Futter Kontakt) (Mair, 1992; Dixon et al., 2013; Staszyk, 2011). Dieser Substanzverlust (2 - 4 mm pro Jahr) an der Kaufläche durch den Abrieb (Staszyk et al., 2015; Schröck, 2015) wird von der stetigen Eruption des Zahnes aus dem Alveolarfach kompensiert (Staszyk et al., 2015). Somit werden Reservekronenanteile mit dem Alter an der Kaufläche exponiert (Staszyk et al., 2015). Die funktionelle Kaufläche bei equinen Backenzähnen besteht aus den Substanzen Schmelz, Dentin und Zement in einer für Ober- und Unterkiefer charakteristischen Anordnung (Staszyk, 2011), welche augenscheinlich erst in einem hohen Alter, nach Abrieb der kompletten Zahnkrone verloren zu gehen scheint (Dixon et al., 2013). Arbeiten mit herbivoren, hypsodonten Spezies haben jedoch gezeigt, dass die Zahnschmelzverteilung nicht gleichmäßig entlang der Zahnkrone oder innerhalb einer Zahnreihe ist (Winkler und Kaiser, 2015; Winkler et al., 2015). So unterscheidet sich der Schmelzgehalt entlang der Zahnkrone eines Steppenzebras (*Equus quagga*) signifikant (Winkler et al., 2015). Folglich ändert sich auch die Substanzzusammensetzung an der Kaufläche mit zunehmenden Alter. Winkler et al. benutzten hierbei für ihre Untersuchung 3D Modelle, die anhand von  $\mu$ CT Aufnahmen rekonstruiert wurden und zeigten, dass sich diese komplexe Fragestellung gut anhand dieser Methode bearbeiten ließ (Winkler et al., 2015). Es lässt sich in der aktuellen Literatur jedoch kein Hinweis finden, ob ein Unterschied in der Substanzzusammensetzung entlang der Zahnkrone auch auf das domestizierte Pferd (*Equus caballus*) zutrifft. Ein Ziel dieser Arbeit ist deshalb, folgende offene Fragestellung bezüglich des Pferdegebisses anhand von  $\mu$ CT Aufnahmen zu bearbeiten:

- Ändert sich die Substanzzusammensetzung entlang der Zahnkrone von equinen Backenzähnen und einhergehend altersbedingt an den Kauflächen?

Bei equinen Backen- und Schneidezähnen bildet die Zahnpulpa zeitlebens sekundäres Dentin als eine Schutzschicht gegenüber dem kontinuierlichen Abrieb (Staszyk et al., 2015), um somit eine Exposition der Zahnpulpa an der Kaufläche zu verhindern. Untersuchungen an Backenzähnen haben jedoch gezeigt, dass diese subokklusale sekundäre Dentinschicht erheblich in ihrer Dicke variieren kann (Dacre et al., 2008b; Shaw et al., 2008; White und Dixon, 2010; Bettiol und Dixon, 2011; Marshall et al., 2012). Ob dies jedoch auch für Schneidezähne zutrifft, lassen die bisherigen Angaben aufgrund der dünnen Studienlage mehr oder weniger offen (Klugh, 2003; Klugh, 2010; Prost et al., 2014). Ferner wird jedoch genau diese Beantwortung der Fragestellung in Hinblick auf die angewandte Kürzung der Schneidezähne im Rahmen von Zahnbehandlungen gefordert (Rawlinson und Earley, 2013). So wird bei einer Zahnbehandlung mit motorisierten Schleifgeräten oder Handraspeln routinemäßig Zahnmaterial von Backen- und Schneidezähnen entfernt (Foster, 2013; Klugh, 2010). Während bei Backenzähnen häufig scharfe Schmelzkanten abgerundet werden, um Schleimhautschäden zu vermeiden (Klugh, 2010), wird bei Schneidezähnen eine Kürzung angewandt mit dem Ziel, die Okklusion und damit den Kauvorgang zu verbessern (Rucker, 2004). Es besteht jedoch hierbei durch das Entfernen von Zahnmaterial an den Kauflächen die Gefahr, die vitale Zahnpulpa zu eröffnen (Rucker, 2004; Bettiol und Dixon, 2011). Gemäß dem hippokratischen Leitsatz „Primum nil nocere“<sup>1</sup> (Williams, 2005) sollte eine Pulpaeröffnung während einer therapeutischen Zahnbehandlung beim Patienten vermieden werden. Deshalb sind weitere anatomische Kenntnisse über die Zahnpulpa und deren Abstände zu Facies occlusalis und Facies labialis in equinen Schneidezähnen unentbehrlich. Die Verwendung anhand von  $\mu$ CT Aufnahmen rekonstruierten Schneidezahnmodellen erlaubt hierbei präzise Messungen im Millimeterbereich. Somit ist ein weiteres Ziel dieser Arbeit, folgende offene Fragestellung anhand von  $\mu$ CT Aufnahmen zu bearbeiten:

- Wie groß sind die Abstände der Zahnpulpa zur Kaufläche und der labialen Oberfläche im Schneidezahnbereich und lässt sich ein altersbedingter Unterschied erkennen?

---

<sup>1</sup> erstens nicht zu schaden

## 2 Publikation I

### **Uneven distribution of enamel, dentine and cementum in cheek teeth of domestic horses (*Equus caballus*): A micro computed tomography study**

Lauritz Martin Englisch, Kathrin Kostrzewa, Susan Kopke,  
Klaus Failing, Carsten Staszyk

Plos One

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220>

Veröffentlicht: 16. August, 2017

## **Abstract**

### **Background**

Hypsodont equine cheek teeth possess large dental crowns, resting partly in the bony alveolus. Over a horse's life cheek teeth erupt continuously to compensate for occlusal wear of 3–4 mm per year. Parts of the crown initially resting in the bony alveolus become progressively exposed at the occlusal surface with time. Hitherto, it is unclear whether the typical structure of the equine occlusal surface, composed of a complex arrangement of enamel, dentin and cementum, remains constant or undergoes structural changes with age. Therefore, we tested the hypothesis that the occlusal surface composition does not remain constant by a quantitative analysis of the dental substances at multiple levels along the dental crown of equine cheek teeth.

### **Methods**

Micro-computed tomography scans of 20 upper cheek teeth and 16 lower cheek teeth from 19 domestic horses were morphologically analysed using imaging and measurement software. Area for individual dental substances was measured at different levels from the apex to the occlusal surface. The data was statistically analysed to detect changes in the area of individual substance along the dental crown. The area of peripheral cementum was measured separately for levels inside and outside the bony alveolus.

### **Results**

In both, upper and lower cheek teeth, enamel area decreased in an apical direction, while dentine area increased. Peripheral Cementum increased dramatically in the occlusal/coronal extra-alveolar position.

## Conclusion

With increasing age the occlusal surface content of dentine increases while the content of enamel decreases. These changes are considered relevant for the detailed explanation of forage disruption in horses as well as for the recommendation of concepts in equine dentistry.

## Introduction

Over the millennia, the horse adapted to changes in feeds available from a foraging animal to the modern grazing creature [1]. As a result of this evolutionary progress the teeth of the today's horse changed from a short crowned, brachydont form to the long crowned, hypsodont form to withstand their highly abrasive feed. Hypsodonty is defined as a large tooth crown height compared to tooth length [2,3]. The crown of equine cheek teeth (CT) can be divided in a clinical crown (visible in the oral cavity) and a reserve crown resting within the bony alveolus. The tooth becomes completed by the development of a dental root which is composed of dentin and cementum but lacks enamel. To compensate for occlusal wear (3–4 mm / year) [4] caused by attrition (tooth to tooth contact) and abrasion (tooth to food contact) [5], CT erupt continuously during a horse's life [6]. Consequently, parts of the tooth crown initially resting in the bony alveolus become revealed at the occlusal surface with time.

The dental substances (enamel, dentine and cementum) are forming characteristic patterns on the occlusal surface for upper cheek teeth (UCT) and lower cheek teeth (LCT). Dentine and cementum wear out faster than enamel which results in the formation of dentine cups and enamel ridges. This arrangement is lost, when the tooth crown is worn down and parts of the dental root—without a complete layer of enamel—are exposed at the occlusal surface. From an embryological conception cementum is not part of the tooth unlike dentine and enamel, rather it belongs to the periodontium [7,8]. Therefore we refer in this study to the tooth substances as dentine and enamel without peripheral cementum. It remains unclear if the distribution of enamel and dentine changes along the anatomical crown and therefore the ratio of dentine, enamel and cementum changes at the occlusal surface with age. Findings in another equidae species (Plains Zebra, *Equus quagga*) documented an



uneven distribution of relative enamel content along the dental crown with higher enamel contents near the apex. This result implies that the content of enamel at the occlusal surface increases with time [2].

Hence we propose a difference in the amount and ratio of the substances enamel, dentine and cementum along the dental crown in domestic horses (*Equus caballus*). To test this hypothesis, we examined the amount of these substances at defined levels along the tooth axis using micro-computed tomography (microCT) scans and picture analysis software to detect differences in their distribution.

## **Material and methods**

### **Material**

A total of 36 CT (20 UCT and 16 LCT, Triadan positions 7–10) were included in this study (Table 1). CT from Triadan position 6 and 11 were excluded due to their very particular shape. Furthermore only CT with a minimum crown height of 20 mm were taken into account. The CT were dissected along with their bony alveoli from the heads of 19 domestic horses of different age, sex and breed (*Equus caballus*). Horses were euthanized by licensed veterinarians on humane grounds for non-dental reasons. The cadaveric heads were provided either by the Institute for Pathology of the University of Veterinary Medicine Hannover or directly from the Clinic for Horses of the University of Veterinary Medicine Hannover. The dental ages were determined as published by Dixon and Kopke [9,10]. CT were prepared for microCT scans using a saber bone saw (Schmid & Wezel GmbH & Co KG, Maulbronn, Germany) steel band saw (Kolbe GmbH, Elchingen, Germany) and diamond coated band saw (Proxxon GmbH, Föhren, Germany). Each CT resting within its bony alveolus was scanned using a microCT (Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland), resulting in 1000-2000 two dimensional DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) per tooth with a minimum resolution 0.082 mm. For further details please see Kopke et al. [10]

## **Methods**

### **Defining the horizontal slice position along the dental crown.**

The DICOM images of each tooth were transferred to the software Osirix (Pixmeo, Geneva, Switzerland), to determine the absolute position of the individual slides. Each tooth was aligned to its longitudinal axis and 2D microCT images were visualized. The most apical image displaying a complete layer of peripheral enamel was assigned as level 0 being the most apical level of the dental crown. Further microCT images were selected every 10 mm along the longitudinal axis of the tooth (Fig 1). The most occlusal image showing a complete layer of peripheral enamel was selected last to be analysed (closest to occlusal surface). By calculating the distance between the most apical and most occlusal image, the individual dental crown height was determined.

### **Amount and ratio of the dental substances.**

Dicom images were transferred to the software Amira (Visualization Sciences Group, Merignac Cedex, France) for further processing. The substances enamel, dentine and cementum were identified on 2D microCT images (Fig 1) and were selected using automatic segmentation tools (Fig 1). Each segmentation was reviewed visually and if necessary corrected by manual segmentation. For UCT, the area of peripheral and infundibular cementum as well as of peripheral and infundibular enamel were recorded separately. The area per slice in mm<sup>2</sup> of each selected substance was calculated by the software. When a selected slice still showed pulp cavities, these areas were added to the dentine. Relative area for the measured substances was calculated by dividing each substance by the absolute area of all substances excluding peripheral cementum in a single slide. Furthermore the area of peripheral cementum was calculated separately for slides associated with an intra-alveolar position and for slides associated with an extra-alveolar position for comparison of mean area of peripheral cementum inside and outside of the bony alveolus.

## Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the BMDP program package (Dixon, BMDP Statistical Software Manual, University of California Press, Berkeley, Los Angeles). UCT and LCT were analyzed separately due to the morphological difference of the teeth.

For the majority of the variables, data descriptions represent the arithmetic mean  $\pm$  standard deviation (SD). To detect a change in the absolute and relative area of the tooth substances along the crown, the regression coefficient (slope) of each measured variable dependent from the position of selected 2D microCT images in mm within each tooth was calculated by available data transformation in form of the linear regression coefficient. Only teeth with at least two measuring points were taken in account. Subsequently, by one-sample t-test the mean slope value was tested for deviation from the hypothetical value zero to test for a statistical significant trend.

According to the design of the study the comparison of the area of peripheral cementum intra- versus extra-alveolar the matched-pairs-t-test was applied.

For each variable, the level of statistical significance was set at  $p \leq 0.05$ .

Furthermore, for each measured variable the intra-class correlation coefficient (ICC) was calculated being based on the one-way analysis of variance with the horse as the class defining variable. Hereby the total variance of the data is decomposed in the part explained by horses and the part between teeth within the horses (intra-class variance) in order to quantify the amount of correlation within an individual horse with multiple teeth for the variable enamel, infundibula and dentine respectively distinguishing between intra and extra alveolar positions for peripheral cementum.

## Results

### Upper cheek teeth

From occlusal to apical the absolute area of enamel (peripheral enamel and infundibular enamel), the absolute area of infundibular enamel as well as the complete area of the infundibula (infundibular enamel and infundibular cementum) decreased (all  $p < 0.01$ ). The absolute area of peripheral enamel as well as the

absolute area of the tooth (peripheral enamel + complete infundibula + dentine) decreased, however these changes were not statistically significant ( $p = 0.31$  and  $p = 0.33$ ). The absolute area of dentine increased, however this increase was not statistically significant ( $p = 0.09$ ) (Fig 2).

The relative area of the complete enamel (peripheral and infundibular enamel) in relation to the complete tooth area (excluding peripheral cementum) decreased ( $p < 0.001$ ), while the relative area of dentine increased from occlusal to apical ( $p < 0.01$ ). The relative area of the infundibula (infundibula enamel and infundibular cementum) decreased ( $p < 0.001$ ) (Fig 2). The absolute area of tooth substances (enamel and dentine) including peripheral cementum ranged from 256.1 to 837.1 mm<sup>2</sup> (mean 621.9 mm<sup>2</sup>  $\pm$  115.5 mm<sup>2</sup>). The absolute area of tooth substances (dentine and enamel) excluding peripheral cementum ranged from 144.7 to 682.4 mm<sup>2</sup> (mean 529.7 mm<sup>2</sup>  $\pm$  95.1 mm<sup>2</sup>) (Fig 3).

The area of peripheral cementum was approximately 3.4 times higher in extra-alveolar positions (mean 148.8 mm<sup>2</sup>  $\pm$  32.5 mm<sup>2</sup>) than in intra-alveolar positions (mean 43.8 mm<sup>2</sup>  $\pm$  11.8 mm<sup>2</sup>) ( $p < 0.01$ ) (Fig 4). Results of the intra-class correlation analysis can be found in Table 2.

### **Lower cheek teeth**

From occlusal to apical the absolute area of enamel and the complete tooth area (enamel and dentine, excluding peripheral cementum) decreased ( $p < 0.001$  and  $p = 0.03$ ), while the absolute area of dentine increased ( $p = 0.02$ ) (Fig 5).

The relative area of enamel in relation to the complete tooth area excluding peripheral cementum decreased ( $p < 0.001$ ), while the relative dentine area increased ( $p < 0.001$ ) (Fig 5). The absolute area of tooth substances (enamel and dentine) including peripheral cementum ranged from 209.5 to 650.1 mm<sup>2</sup> (mean 422.3 mm<sup>2</sup>  $\pm$  97.8 mm<sup>2</sup>). The absolute area of tooth substances (dentine and enamel) excluding peripheral cementum ranged from 170.9 to 370.5 mm<sup>2</sup> (mean 293.8 mm<sup>2</sup>  $\pm$  45.1 mm<sup>2</sup>) (Fig 3).

The area of peripheral cementum was approximately 2.7 times higher in extra-alveolar positions (mean  $192.9 \text{ mm}^2 \pm 38.7 \text{ mm}^2$ ) than in intra-alveolar positions (mean  $71.7 \text{ mm}^2 \pm 23.8 \text{ mm}^2$ ) ( $p < 0.01$ ) (Fig 4). Results of the intra-class correlation analysis can be found in Table 3.

## Discussion

Our results show an uneven distribution of enamel and dentine along the dental crown in both UCT and LCT. Therefore the ratio of enamel and dentine changes at the occlusal surface with age. We documented a decrease of enamel in an apical direction. These findings are different from those of Winkler et al. [2], who reported highest relative enamel content in the most apical quarter of the dental crown in UCT of a Plains Zebra (*Equus quagga*) in relation to the tooth substances (enamel, dentine and the infundibular area). Furthermore, Winkler et al. reported lowest relative enamel content in the most upper (most occlusal) quarter in UCT. However, the calculations of enamel content we performed were different from those performed by Winkler et al. [2]. We measured a change in enamel content along the tooth crown by selecting a certain number of slides rather than cutting each individual tooth in 4 sections and measuring enamel content in relation to the volume of each individual sections. The zebra specimen examined by Winkler et al. featured newly erupted CT that were hardly worn down by attrition. Equine CT in such a young state feature very distinct structural differences compared to fully erupted and functional CT. The clinical crowns of newly erupted CT possess enamel cusps covered by cementum rather than featuring a typical occlusal surface composed of enamel ridges and dentin cups. At the apical end of newly erupted CT a vital enamel organ is still present and the development of enamel and dentin is still in progress. These distinct structural features might have had influenced of the results of Winkler et al. For our examinations measurements were performed exclusively in sections with already completed enamel formation. This was confirmed by the presence of peripheral cementum, which can only form after degeneration of the enamel organ. Once the enamel organ is degenerated, the formation of new enamel layers is impossible. For all teeth included in our study we chose an identical starting point for measurements in the apical region (level 0), that represented the most apical level of the dental

crown. We then defined levels up to the occlusal surface for measuring a change of the tooth substances in relation to the level 0. This approach guaranteed to collect morphometric data which were not influenced by the dental age and therefore by occlusal wear. Because changes of area occupied by dental substances were calculated in relation to the most apical section of the dental crown, we could compare a large group of CT and detect general trends in the distribution, even if the CT were from different dental ages and therefore from different crown heights. Enamel in CT features a characteristic arrangement with many invaginations into the adherent dentine. In UCT the infundibula further increase the enamel area of the occlusal surface with multiple invaginations. In LCT deep invaginations of the peripheral enamel appear to compensate for the absence of the two infundibula [11]. These enamel invaginations were also described by Suske et al. and Kilic et al. [11,12] and become less deep and complex in apical direction. This morphological observation is consistent with our morphometric findings of a decreasing amount of enamel from occlusal to apical. The decrease of enamel folds in an apical direction in CT was also described by Du Toit et al. [7,13]. With enamel being the hardest substance in the body [14-16] one can expect that it plays a major role in the wear resistance against occlusal wear by attrition and abrasion. In our study absolute and relative enamel area decreased in both LCT and UCT in apical direction. Thus with increasing age, as deeper parts of the reserve crown become revealed at the occlusal surface, the amount of enamel decreases at the occlusal surface. A decrease of enamel should lead to a decrease in wear resistance with age, because less enamel should logically lead to less wear resistance. Furthermore we observed a shift from lower relative enamel area towards higher relative dentine area in an apical direction in both UCT and LCT. Consequently, overall dentine area increases with age at the occlusal surface. These changes in the quantitative composition of the occlusal surface might lead to an overall decrease of wear resistance with age in domestic horses. However, according to clinical observations [17,18], teeth of young horses appear to be softer and less resistant to floating (i.e. corrective dental procedure performed with manual rasps or motorized floats) than CT of older horses. This suggests an increase of wear resistance with age. Though this increase is contradictory to our morphological findings when referring to the mere amounts of enamel and dentine. Thus, we assume that the decreasing enamel content at the

occlusal surface is compensated by distinct processes which ensure sufficient resistance and therefore sufficient function of the tooth during mastication. Studies of equine incisor teeth documented that secondary dentine was harder on mid tooth levels than on a level near the occlusal surface [13,19]. Thus, dentine hardness at the occlusal surface increases with age. These findings are explained by a reported lifelong addition of highly mineralized peritubular dentine within the dentinal tubules [8]. Another characteristic of hypsodont CT is the ongoing mineralization of enamel after eruption compared to brachydont teeth [20]. Enamel mineralization takes place in two main phases: first matrix production and second enamel maturation [20,21]. Most of the mineralization takes place in the second phase. After these two phases the growth in thickness of enamel layers has been completed. Derived from this observation enamel layers near the apex in the dental crown have a longer maturation period. The higher mineral content of enamel layers near the apex may compensate for the lower amounts of enamel at the occlusal surface and therefore additionally protect from progressive occlusal wear. However to test the mineralization assumption further studies are required to measure overall mineral content in enamel layers at different levels along the tooth crown in CT. Furthermore the clinical observation of softer teeth in young horses and therefore our proposed increase of wear resistance with age has not yet been confirmed by structured and reliable studies. The thickness and area of enamel in CT cannot change after the enamel organ has been destroyed and cementum has been deposited on its peripheral surface within the alveolus. The same applies for the area of dentine which is completely enclosed by the peripheral enamel. At subocclusal levels pulp cavities are present surrounded by dentine. Prior to exposure at the occlusal surface these pulp cavities become completely filled with secondary dentine [11]. Consequently these pulp areas were added to dentine during measurements. Therefore all measurements of dentine and enamel on horizontal levels, even when taken at levels in the reserve crown, reflect the amount of these substances when the respective levels become exposed at the occlusal surface. This does not apply for the peripheral cementum because peripheral cementum is described as a dynamic tissue and is continuously produced throughout the life of a CT [8]. Measured amounts of peripheral cementum at the reserve crown within the bony alveolus do not represent the amounts of peripheral cementum exposed at the occlusal surface by the time the

respective levels erupt. Therefore measuring a change in amounts of peripheral cementum with the same statistical calculations we performed on amounts of dentine and enamel would have led to biased results. So we chose to compare amounts of peripheral cementum with a one group t-test between levels inside and outside the bony alveolus. A thin layer of peripheral cementum within in the bony alveolus provides anchorage for the periodontal ligament [4,22]. This is the typical function of cementum located at the intra-alveolar portion of the tooth. In this regard, equine hypsodont teeth resemble brachydont teeth [23]. However, in contrast to brachydont teeth, equine hypsodont teeth feature cementum also in an extra-alveolar position at the occlusal surface and at the clinical crown. In this extra-alveolar position the thickness of peripheral cementum increases dramatically and cementum is then considered as a major structural component of the clinical crown and occlusal surface [22,24]. This increase suggests a pronounced cementogenesis in a periodontal zone just below the alveolar crest. This assumption is supported by results of Warhonowicz et al., that documented highest cementoblast cells density in a subgingival periodontal position directly adjacent to the equine tooth [25]. In such a periodontal zone in hypsodont cheek teeth, cementoblast cells produce several millimetres of cementum per year. This is a remarkable high production rate compared to cementum production rate in brachydont teeth of only a few micrometres [26]. The documented high production rate of cementum in the periodontium of equine cheek teeth further supports studies that suppose very high regenerative capacities of the equine periodontal tissue [25,27,28]. In our study we examined a group of individual teeth from horses of different breeds. Teeth from different breeds might differ in size, i.e. pony vs draft horse. Accordingly we analysed absolute and relative data. Relative data are independent of size and confirmed our findings using absolute data. Both data sets showed a clear shift towards higher dentine content and lower enamel content in an apical direction. However, our data were not suitable to analyse the influence of breed and sex on the composition of dental hard substances, because the specimen number per breed was too low. Calculated absolute and relative values for an increase or decrease of each tooth substance along the tooth axis might be influenced by individual particularities of single horses or teeth. However, the results of the ICC analysis showed, that the influence of the single individuals are not significant regarding almost all tooth



substances. Therefore overall results have not been strongly influenced by a single specimen. Further studies with a higher number of CT should be conducted to analyse breed influence or tooth position. Another limitation of our study was, that due to technical limitations, only selected CT of one arcade were examined using microCT and picture analysis software. Recent morphological findings in mammalian herbivores documented that enamel content varies between tooth positions. The third molar showed highest enamel content independent of phylogeny [14]. Further studies with a higher number of CT from one individual horse are required to elucidate whether those intraindividual differences apply for domestic horses as well.

## **Conclusion**

Dentine and enamel are not evenly distributed along the crown in equine CT. Consequently, the complex composition of the occlusal surface changes with time, i.e. the content of dentine increases while the content of enamel decreases with age. Further studies need to evaluate the biomechanical implications (resistance against of occlusal wear) and clinical consequences (corrective dental procedures) of these findings.

## **Supporting information**

S1 Table. Complete list of upper cheek teeth used for this study.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.s001>

S2 Table. Complete list of lower cheek teeth used for this study.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.s002>

S1 File. Excel data sheet.

Measured area in mm<sup>2</sup> of the different substances for UCT and LCT used in this study. Each variable was taken at a specific level along the tooth axis. Furthermore for each level peripheral cementum was assigned to an extra- or intra-alveolar position.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.s003>

S2 File. Results of the t-test.

All measured dental substance (area in mm<sup>2</sup>) were statistical analysed. The regression coefficient (slope) of each measured variable dependent from the position of selected 2D microCT images in mm within each tooth was calculated by available data transformation in form of the linear regression coefficient.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.s004>

S3 File. Results of the matched pair t test for peripheral cementum.

Mean value of peripheral cementum of intra-alveolar positioned selected slides = 1 compared to mean value of peripheral cementum of extra-alveolar positioned selected slide = 3.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.s005>

S4 File. Results of the intra-class correlation coefficient test.

For each measured variable the intra-class correlation coefficient (ICC) was calculated being based on the one-way analysis of variance with the horse as the class defining variable.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.s006>

## **Acknowledgments**

We would like to thank Eva Kammer for assistance with the figures, Andreas Schaubmar for help with data processing for statistical analysis, Patricia Schrock for assistance with the software Amira, Lutz Goehring and Sam Hole for reviewing the manuscript.

## **References**

1. Klugh Evolution of hypsodont tooth. In: Klugh DO. Principles of equine dentistry. London: Manson Publ; 2010. pp 7-8
2. Winkler DE, Kaiser TM, Wilson L. Uneven distribution of enamel in the tooth crown of a Plains Zebra (*Equus quagga*). PeerJ. 2015; 3: e1002. doi: 10.7717/peerj.1002.

3. van Valen L. A Functional Index of Hypsodonty. *Evolution*. 1960; 14: 531. doi: 10.2307/2406003.
4. Schröck C. Messung von Eruptionsraten der Backenzähne; Proceeding of the 13<sup>th</sup> IGFP Conference, Wiesbaden 2015.
5. Mair LH. Wear in dentistry--current terminology. *J Dent*. 1992; 20: 140-144.
6. Easley J, Schumacher J, Dixon PM. *Equine dentistry*. 3rd ed. Edinburgh, New York: Saunders; 2011.
7. Dixon PM, Du Toit N, Staszyk C. A fresh look at the anatomy and physiology of equine mastication. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2013; 29: 257. doi: 10.1016/j.cveq.2013.04.006.
8. Staszyk C, Suske A, Pöschke A. Equine dental and periodontal anatomy. A tutorial review. *Equine Vet Educ*. 2015; 27: 474-481. doi: 10.1111/eve.12317.
9. Baker GJ, Easley J, editors. *Equine dentistry*. 2nd ed. Edinburgh, New York: Elsevier Saunders; 2005.
10. Kopke S, Angrisani N, Staszyk C. The dental cavities of equine cheek teeth: three-dimensional reconstructions based on high resolution micro-computed tomography. *BMC Vet Res*. 2012; 8: 173. doi: 10.1186/1746-6148-8-173.
11. Kilic S, Dixon PM, Kempson SA. A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues of horses: 1. The occlusal surface and enamel thickness. *Equine Vet J*. 1997; 29: 190-197.
12. Suske A, Poschke A, Muller P, Wober S, Staszyk C. Infundibula of equine maxillary cheek teeth: Part 2: Morphological variations and pathological changes. *Vet J*. 2016; 209: 66-73. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.11.023.
13. Du Toit N, Bezensek B, Dixon PM. Comparison of the microhardness of enamel, primary and regular secondary dentine of the incisors of donkeys and horses. *Vet Rec*. 2008; 162: 272-275.
14. Winkler DE, Kaiser TM. Structural Morphology of Molars in Large Mammalian Herbivores: Enamel Content Varies between Tooth Positions. *PLoS ONE*. 2015; 10: e0135716. doi: 10.1371/journal.pone.0135716.
15. Caldwell RC, Muntz ML, Gilmore RW, Pigman W. Microhardness studies of intact surface enamel. *J Dent Res*. 1957; 36: 732-738.
16. Craig RG, Peyton FA. The micro-hardness of enamel and dentin. *J Dent Res*. 1958; 37: 661-668.

17. Allen T. Dental Tools and Equipment. In: Allen T, editor. Manual of Equine Dentistry: Muleicorn Press, United States of America.
18. Griffin C. The gold standard of dental care: the juvenile horse. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2013; 29: 487-504, vii-viii. doi: 10.1016/j.cveq.2013.04.004.
19. Muylle S, Simoens P, Verbeeck R, Ysebaert MT, Lauwers H. Dental wear in horses in relation to the microhardness of enamel and dentine. *Vet Rec.* 1999; 144: 558-561.
20. Hoppe KA, Stover SM, Pascoe JR, Amundson R. Tooth enamel biomineralization in extant horses: implications for isotopic microsampling. *Incremental Growth in Vertebrate Skeletal Tissues: Paleobiological and Paleoenvironmental Implications.* 2004; 206: 355-365. doi: 10.1016/j.palaeo.2004.01.012.
21. Allan J.H. Maturation of Enamel. In: Miles A, editor. *Structural and Chemical Organization of Teeth*, vol. 1. New York: Academic Press; 1967.
22. Mitchell SR, Kempson SA, Dixon PM. Structure of peripheral cementum of normal equine cheek teeth. *J Vet Dent.* 2003; 20: 199-208.
23. Nanci A, TenCate AR. Ten Cate's oral histology. Development, structure, and function. 8th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier; 2013. pp 205-232.
24. Sahara N. Development of coronal cementum in hypsodont horse cheek teeth. *Anat Rec (Hoboken).* 2014; 297: 716-730. doi: 10.1002/ar.22880.
25. Warhonowicz M, Staszyk C, Rohn K, Gasse H. The equine periodontium as a continuously remodeling system: morphometrical analysis of cell proliferation. *Arch Oral Biol.* 2006; 51: 1141-1149. doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.05.013.
26. Schroeder HE. *Orale Strukturbiologie. Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks.* 5th ed. Stuttgart: Thieme; 2000. pp 156-157
27. Robinson C. Enamel maturation: a brief background with implications for some enamel dysplasias. *Front Physiol.* 2014; 5: 388. doi: 10.3389/fphys.2014.00388.
28. Staszyk C, Gasse H. Primary culture of fibroblasts and cementoblasts of the equine periodontium. *Res Vet Sci.* 2007; 82: 150-157. doi: 10.1016/j.rvsc.2006.07.003.

## Tables

**Table 1. Cheek teeth used in this study.**

group	teeth [n]	age range [years]	reserve crown height [mm]
UCT	20	1.5–20	21.91–62.49
LCT	16	1.5–16	21.57–75.77

UCT, Upper cheek teeth; LCT, Lower cheek teeth

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.t001>

**Table 2. Results of the intra-class correlation analysis for the slopes concerning UCT.**

	tooth substance	variance component between		population ICC	p-value
		horses	teeth within individual horse		
absolute data	total enamel	0.385	0.744	0.341	0.725
	infundibular enamel	0.002	0.001	0.711	0.170
	peripheral enamel	0.0451	0.300	0.129	0.958
	dentine	0.456	1.004	0.313	0.766
	tooth substances	2.152	7.877	0.215	0.887
	infundibula	5.380	1.965	0.733	0.105
relative data	peripheral cementum	1465.533	377.828	0.795	0.096
	total enamel	0.141	0.144	0.494	0.471
	infundibular enamel	0.272	0.123	0.677	0.212
	peripheral enamel	0.024	0.054	0.308	0.773
	dentine	0.018	0.029	0.378	0.671
	infundibula	0.413	0.279	0.596	0.295
	peripheral cementum	37.046	4.929	0.882	0.031

ICC, intra-class correlation

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.t002>

**Table 3. Results of the intra-class correlation analysis for the slopes concerning LCT.**

	tooth substance	variance component between		population ICC	p-value
		horses	teeth within individual horse		
absolute data	enamel	0.546	0.126	0.812	0.051
	dentine	0.088	0.116	0.439	0.540
	tooth substances	0.436	0.185	0.708	0.157
	peripheral cementum	3078.914	516.706	0.856	0.024
relative data	enamel	0.029	0.019	0.7133	0.144
	dentine	0.029	0.019	0.7133	0.145
	peripheral cementum	21.515	25.905	0.458	0.518

ICC, intra-class correlation

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220.t003>

## Figures

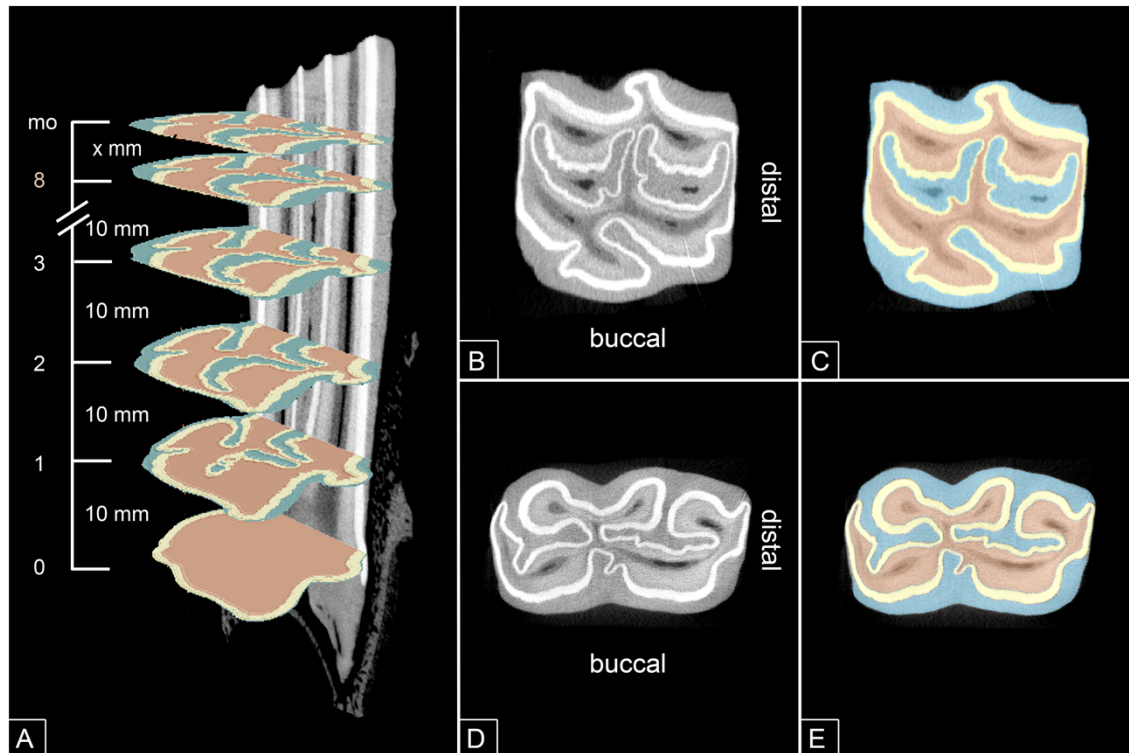


Fig 1. MicroCT images of a 109.

(A) MicroCT image of a 109, longitudinal section. Depending on the tooth height up to nine equal spaced (10 mm) horizontal sections presenting a complete layer of peripheral enamel were selected for measurements. Additionally the most occlusal section (mo) of the crown showing a complete layer of peripheral enamel was selected. (B,D) MicroCT cross section showing the typical arrangement of the dental substances of an upper (B) and lower (D) cheek tooth. (C,E) MicroCt cross section as in B,D with selected enamel (yellow), dentine (light red) and cementum (blue) to define areas for measurement.

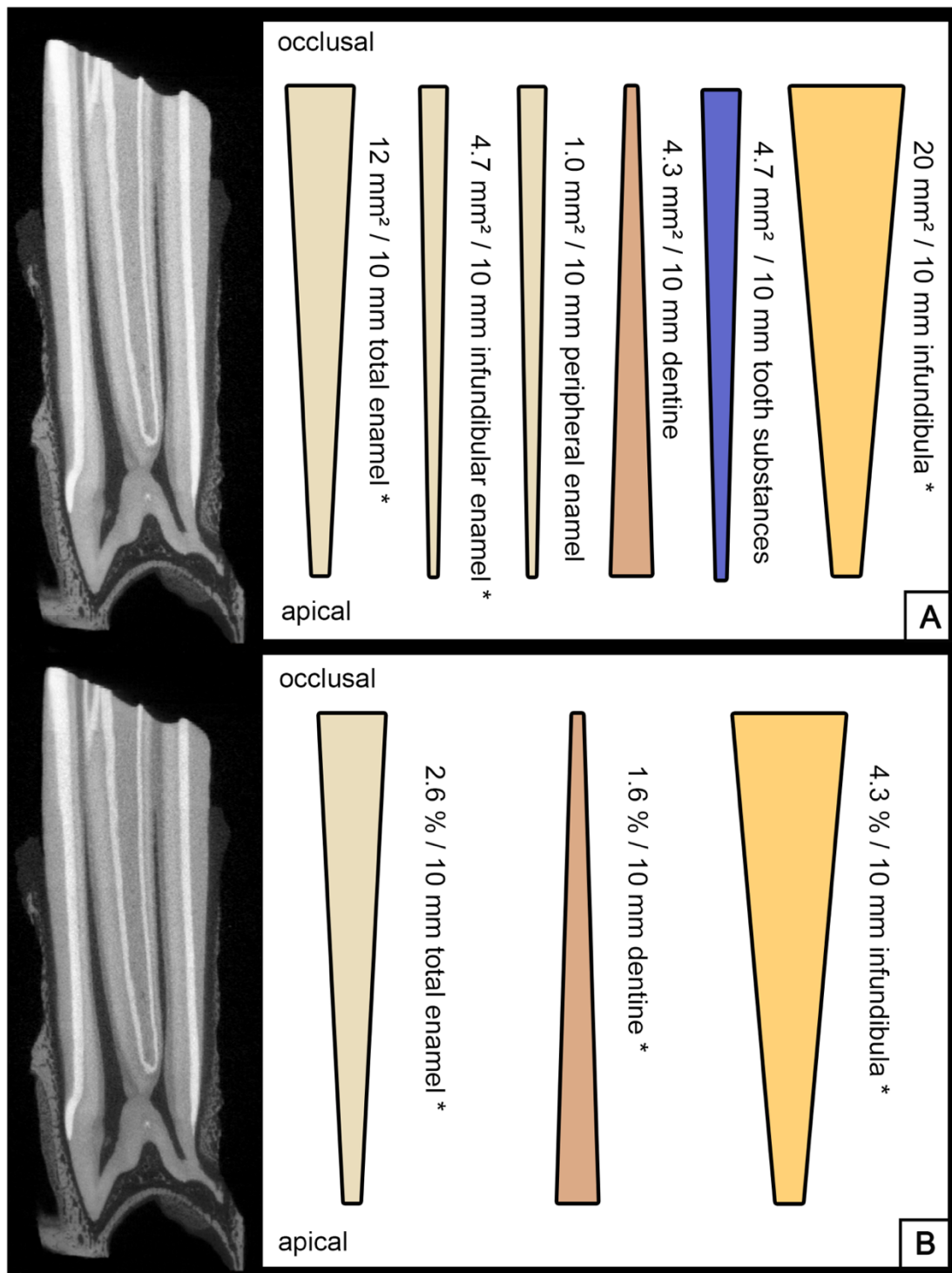


Fig 2. MicroCT of an UCT, longitudinal section.

Bars indicating decrease / increase of dental substances along the dental crown. P values < 0.05 are marked with \*. (A) Calculated mean absolute changes per 10 mm crown height. (B) Calculated mean relative changes per 10 mm crown height.

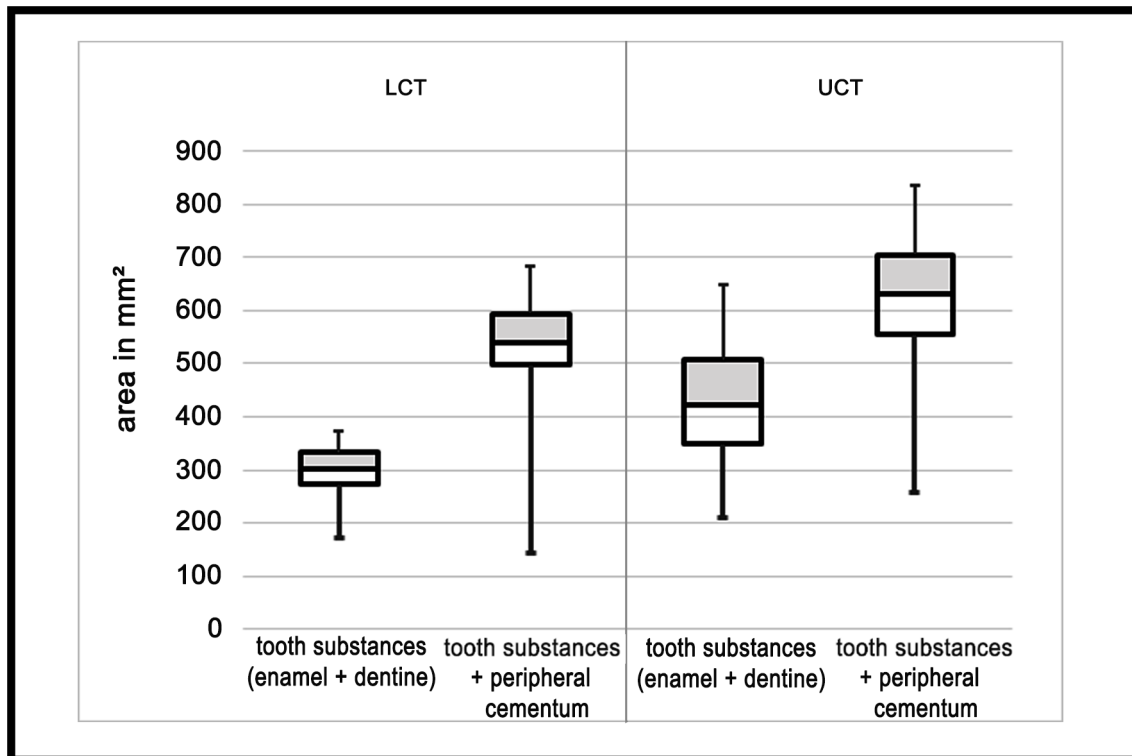


Fig 3. Boxplots representing the absolute area of tooth substances (dentine + enamel) and the absolute area of tooth substances plus peripheral cementum for UCT and LCT.

The boxes represent the interquartile range (25%, 75%), the horizontal line the median and the whiskers the range.



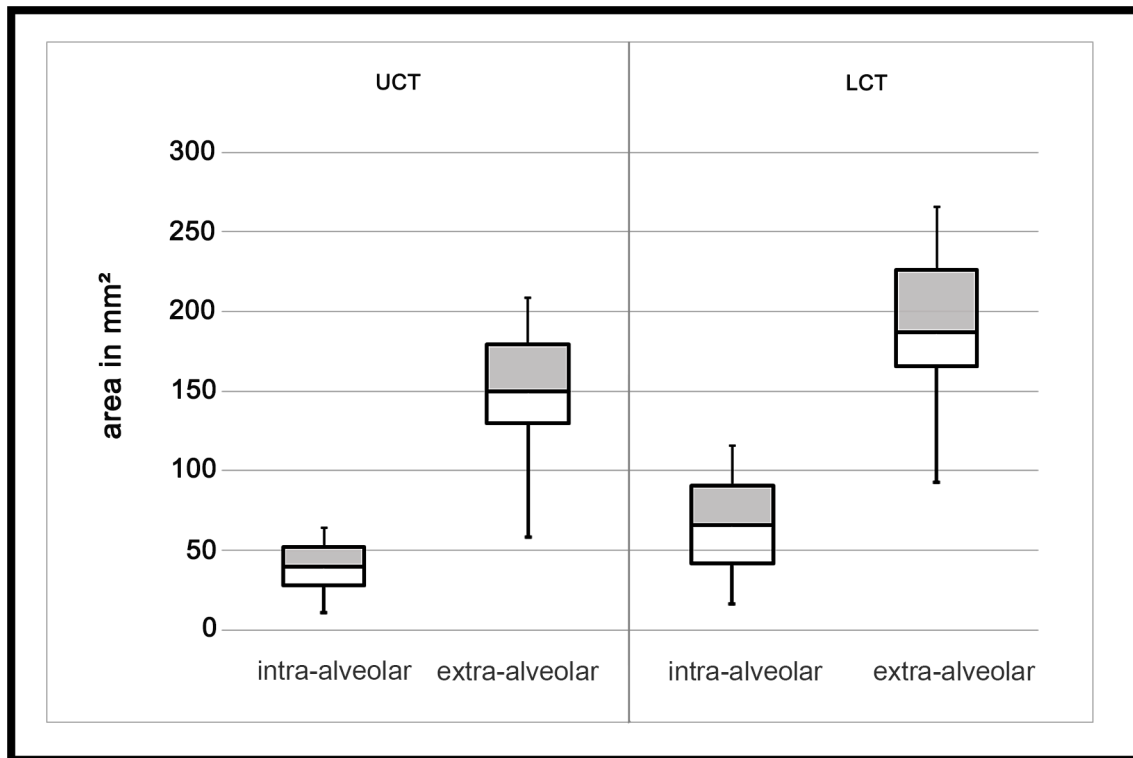


Fig 4. Boxplots representing the area of peripheral cementum in intra-alveolar and extra-alveolar position for LCT and UCT.

The boxes represent the interquartile range (25%, 75%), the horizontal line the median and the whiskers the range.

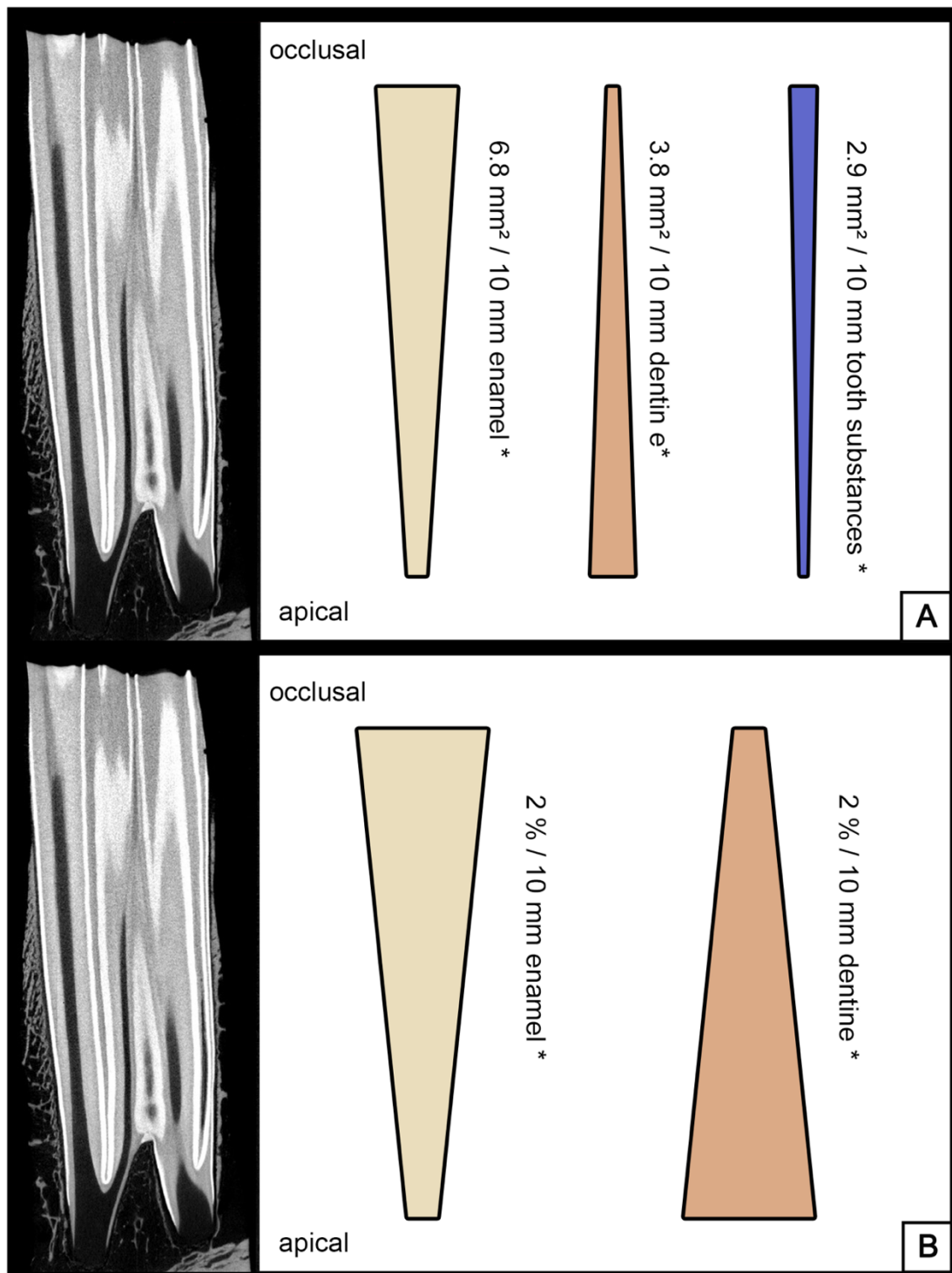


Fig 5. MicroCT of an LCT, longitudinal section.

Bars indicating decrease / increase of dental substances along the dental crown. P values < 0.05 are marked with \*. (A) Calculated mean absolute changes per 10 mm crown height. (B) Calculated mean relative changes per 10 mm crown height.

### **3 Publikation II**

#### **Anatomy of equine incisors: Pulp horns and subocclusal dentine thickness.**

Lauritz Martin Englisch, Patricia Schrock, Matthias Lüpke,  
Hermann Seifert, Carsten Staszyk

Equine Veterinary Journal

Akzeptiert: 14. März 2018

DOI: 10.1111/evj.12841

## Summary

**Background:** Equine incisors are often reduced in height during corrective dental procedures. Increased knowledge of subocclusal dentine thickness and pulp morphology may help prevent iatrogenic pulpar exposure. Although, such data exists for equine cheek teeth there is currently no reliable data for incisors.

**Objectives:** To measure the distances between pulp cavities and the occlusal as well as the labial surfaces of equine incisors and to test if these distances changes with age. Furthermore, pulp morphology with regard to number and orientation of pulp horns was investigated.

**Study Design:** Observational study using cadaver material and high resolution computed-tomography.

**Methods:** Upper and lower incisor arcades were removed from heads of 13 horses and scanned with high resolution computed-tomography. 3D Models were reconstructed and configuration as well as number of the pulp horns were evaluated. Anatomical marker points were set to measure distances between the pulp horn tips and the labial and occlusal surfaces.

**Results:** Subocclusal dentine thickness ranged between 1.5 mm and 11.7 mm in upper and 0.7 mm and 6.7 mm in lower incisors. It decreased with tooth age. Distance to labial aspect ranged between 3.5 mm and 9.0 mm in upper and 3.8 mm and 8.1 mm in lower incisors and increased with tooth age.

**Main Limitations:** Details of horse management, feeding and previous dental care were not available. Therefore, it remains unknown how these factors influenced the results.

**Conclusions:** Although mean subocclusal dentine thickness of greater than 4.1 mm were found, equine incisors occasionally have less than 1 mm of thickness with potential for iatrogenic pulpar exposure during incisor reduction. Therefore, great care should be exercised by any practitioner during incisor reduction.

## Introduction

Tooth substance is removed with motorised equipment or by manual rasps during corrective dental procedures, [1-3]. Sharp enamel points in equine cheek teeth are

commonly removed in order to provide comfort during mastication and to prevent soft tissue damage. Equine incisors are often reduced in height to adjust incisors in relation to cheek teeth arcades. Reduction of incisor's height decreases the molar contact distance in cheek teeth and therefore presumably improves molar contact during mastication [1,4].

However, removing hard substances from the occlusal surface of equine teeth can lead to pulpar exposure and a risk of iatrogenic pulpitis and subsequent tooth loss [1,4,5]. Hence detailed anatomical knowledge of pulp morphology and subocclusal dentine thickness, which represents the distance between the pulp cavity and occlusal surface, is necessary to avoid iatrogenic tooth damage. Previous studies on subocclusal dentine thickness and pulp morphology were mainly focused on cheek teeth [5-10]. However, two studies limited to 6 and 51 incisors respectively, suggested a mean subocclusal dentine thickness of 8 mm (range 4 mm - 12 mm)[2, 11] and 8.38 mm (range 4.2 mm - 13.9 mm) [12]. For reducing incisor teeth height during dental care, *Rawlinson and Earley* recommended reducing a maximum of 3 mm per 4 months from the occlusal surface extrapolating from several recent studies in subocclusal dentine thickness in cheek teeth while highlighting the need for more studies in equine incisors [13].

The morphology of the pulp cavity is also important regarding the risk of an iatrogenic pulp exposure and possible endodontic treatment options. In addition of reduction of incisors in height, the labial edge of the reduced occlusal surface is commonly rounded during dental care.

Therefore, the aim of this study was to describe incisor pulp morphology and to measure the distances between the pulp cavity and the occlusal and labial surfaces respectively. The study also aims to provide accurate data to minimise the risk of iatrogenic pulpar exposure during incisor reduction. For this reason, we chose to analyse equine incisor teeth in an observational study by micro computed tomography (microCT) and modern 3D picture analysis software.

## **Material and methods**

### **Material**

A total of 101 incisor teeth (50 lower and 51 upper incisors) from 13 domestic horses of different breeds (10 warmbloods, one thoroughbred, one Arab horse and one draft horse), sex (four mares, eight geldings, one stallion) and age (range 6 to 22 years) were included in this study. The horses were euthanised by licensed veterinarians on humane grounds for non-dental reasons in the Equine Clinic of the University of Veterinary Medicine Hannover. The age of 11 horses was determined by means of the equine ID card, the age of the other two horses was estimated using the ageing guides by Muylle [14,15] and Martin [16]. The dental age (years post eruption, p.e.) was determined of each tooth by calculating the horse age minus the expected eruption times of the individual incisor and used for further statistical analysis. No data about previous dental care were obtained. The horses' heads were disarticulated at the atlanto-occipital joint and were stored at -18 degrees Celsius. The frozen heads were cut by use of a steel band saw<sup>1</sup> (Type K 420) resulting in specimens of the rostral aspect of the mandible and maxilla including incisor and canine teeth. Specimens were thawed to room temperature and prepared for microCT by removing all soft tissue in order to maximise microCT image quality. Specimens were scanned in a microCT scanning system<sup>2</sup> (XtremeCT). For each specimen 1000 - 2000 two dimensional DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine) images were created at an isotropic spatial resolution of 82 µm. For further details please see *Schrock et al.* (16).

### **Constructing 3D models**

DICOM images were transferred to the software AMIRA<sup>3</sup> (version 5.4.2) for reconstructing 3D models of the incisor teeth. Compact bone, periodontal space, enamel, dentine, cementum and pulp cavity were identified by their specific grey scales and selected on the 2D images by automated segmentation software tools. Each segmentation was reviewed visually and if necessary corrected by manual

segmentation. Subsequently 3D surfaces were generated with a programme internal tool resulting in 3D incisor teeth models of the previously selected structures.

### **Shape and number of pulp horns**

The configuration of the pulp cavity was assessed in reconstructed 3D incisor models. Separated pulp structures extending occlusal from a common pulp compartment were referred to as pulp horns (Fig 1). All parts of the pulp cavity apical to the pulp horns were defined as pulp canal. In each incisor, the presence or absence of a pulp canal and of pulp horns as well as number and position of individual pulp horns were recorded.

### **Constructing reference planes and lines**

#### **Dentinal occlusal plane**

Four reference points (rp) were determined on the occlusal surface of the peripheral enamel of each incisor (Fig 2). The position of the dentinal occlusal plane (dOP) was defined by the following procedure: first, an enamel occlusal reference plane was constructed using rp 1 to 4. Second, this plane was repositioned in an apical direction until occlusal dentine reached contact.

#### **Labiomesial and labiodistal pulp tip planes**

A reference point at the most occlusal tip of each pulp horn (labiomesial and labiodistal) was determined on 2D microCT images (Fig 2). Using these points, the pulp horn tip planes were calculated parallel to the dentinal occlusal plane (Fig 2).

#### **Enamel auxiliary lines**

Two rp at the most labial aspect of the peripheral enamel were selected on each pulp horn tip plane. These rp were used to construct an enamel auxiliary line on each pulp horn tip plane (Fig 2).

## Measuring pulpoocclusal and pulpolabial distances

Distances of pulp horn tips to the dentinal occlusal surface were determined by measuring the distances between the dentinal occlusal plane and the pulp horn tip planes (Fig 3.). This distance represented therefore the subocclusal dentine thickness. We chose to refer to the subocclusal dentine thickness as the pulpoocclusal distance in this paper for simplicity. Distances of pulp horn tips to the labial enamel surface, referred to as the pulpolabial distance, were determined by constructing perpendicular lines to the enamel auxiliary lines through the related pulp horn tip reference points (Fig 3). Subsequently, the length of the perpendicular line was measured. For all measurements, the software internal 3D measurement tool was used.

## Data Analysis

All distances of individual pulp horns (labiodistal and labiomesial) were recorded separately for each individual tooth. A simple linear regression was used to find a relationship between distances and tooth age separately for labiomesial and labiodistal pulp horn distances. The over-all significance of the linear regression model was tested via F-statistics. A p-value  $\leq 0.05$  showed a significant influence of tooth age.

The coefficient of determination ( $R^2$ ) was calculated. In case of the simple linear regression used here, the coefficient of determination ( $R^2$ ) corresponds to the square of the correlation coefficient ( $r^2$ ) so the strength of the relationship was characterised as follows:  $R < 0.21$  indicated poor correlation;  $R = 0.21 - 0.41$  suggested average correlation;  $R = 0.41 - 0.61$  was considered moderate correlation;  $R = 0.61 - 0.81$  meant higher correlation and  $R > 0.81$  indicated strong correlation [18,19].

The statistical analysis included a descriptive statistics separated by the factors of the tooth position (Triadan), the age and the pulp horn. The influence of the various factors was examined with a multifactorial variance analysis. Homogeneity of variance was tested with a Levene test. Normal distribution was verified with a Kolmogorov-Smirnov test. The mean values were compared in a post-hoc test with



correction according to Tukey. Statistical relevance was pre-set as  $p = 0.05$ . All statistical calculations were performed with the programme SAS Enterprise Guide<sup>4</sup> (Version 7.1).

## **Results**

### **Pulp morphology**

#### **Number of pulp horns and pulp morphology**

All examined incisors featured either one or two pulp horns extending in occlusal direction from the main pulp canal (Table 1). The pulp horns were constantly positioned labiomesial and/or labiodistal in relation to the infundibulum. The majority of upper incisors ( $\geq 65\%$ ) featured both, a labiomesial and a labiodistal pulp horn. Lower central (301/401) and middle incisors (302/402) showed the same prevalence ( $\geq 65\%$ ) of the two pulp horns. In all lower corner incisors (303/403) only the labiomesial pulp horn was present. Almost all incisors (97%) featuring only one single pulp horn, possessed the labiomesial pulp horn. Only one central upper incisor showed a single labiodistal pulp horn. The prevalence of incisors with only one pulp horn was higher in lower incisors (52%) than in upper incisors (18%).

#### **Pulpoocclusal distance**

Mean ranges were higher in upper incisors compared to lower incisors (Table 2). Pulpoocclusal distances in upper incisors featured a wide range of 1.5 mm - 10.7 mm for the labiomesial pulp horn and of 3.2 mm - 11.7 mm for the labiodistal pulp horn. Similar conditions were found in lower incisors, with a range of 0.7 mm - 6.4 mm for the labiomesial pulp horn and 1.8 - 6.7 mm for the labiodistal pulp horn. The pulpoocclusal distances decreased with age in upper and lower incisors for both pulp horns (labiomesial and labiodistal), however only a negative, moderate correlation was found for the pulpoocclusal distance of the labiodistal pulp horn in upper incisors ( $R = -0.56$ ,  $p < 0.001$ ) and the labiomesial pulp horn in lower incisors ( $R = -0.34$ ,  $p =$

0.02) (Fig 4). The decline of the pulpoocclusal distances in the other pulp horns was not significant.

The shortest pulpoocclusal distance of 0.7 mm was recorded in a lower incisor (labiomésial pulp horn, 401, 15.5 years p.e.), whereby greatest subocclusal dentine thickness of 11.7 mm was recorded in an upper incisor (labiodistal pulp horn, 101, 3.5 years p.e.). For further details on measured pulpoocclusal distances see Supplementary Item 1.

### **Pulpolabial distance**

Mean ranges were similar in upper and lower incisors (Table 3). Pulpolabial distances in upper incisors featured a wide range of 3.7 mm - 9.0 mm for the labiomésial pulp horn and of 3.5 mm - 7.7 mm for the labiodistal pulp horn. Similar conditions were found in lower incisors, with a wide range of 3.8 mm - 8.1 mm for the labiomésial pulp horn and 3.9 mm - 6.8 mm for the labiodistal pulp horn.

The pulpolabial distances increased with age in upper and lower incisors for both pulp horns (labiomésial and labiodistal) (Fig 5). A positive higher or strong correlation was stated for all distances ( $R = 0.78 - 0.89$ ,  $p < 0.001$ ).

The shortest pulpolabial distance of 3.5 mm was recorded in an upper incisor (102, 5.5 years p.e.), whereby the greatest pulpolabial distance of 9.0 mm was recorded in an upper incisor (102, 14 years p.e.). For further details on measured pulpolabial distances see Supplementary Item 2.

### **Multifactorial variance analysis**

Analysis of variance showed that the factor tooth position within a jaw did not affect the measured pulpolabial distances ( $p = 0.2$ ) but the pulpoocclusal distances ( $p < 0.001$ ). By contrast, the parameters pulp position (labiomésial vs. labiodistal) and jaw (upper vs. lower jaw) showed a statistically significant influence on the distances considered here ( $p < 0.05$ ). The preconditions for the variance analysis were not fulfilled for each subgroup ( $p_{\min} = 0.02$ ), but it can be assumed that the analysis of variance is applicable because of the relatively large group sizes.

## Discussion

We have described the pulpoocclusal distance (subocclusal dentine thickness) and the pulpolabial distance (pulp horn distance to the labial aspect of the tooth's hard substance) in equine incisors. To make these measurements requires general description of the pulp configuration. Pulp morphology in equine incisors has previously been described as Y shaped, with two pulp horns (labiomesial and labiodistal) [20,21]. This shape is present in both arcades but seems more pronounced in upper than in lower incisors [17,20,21]. However, we found that not all examined incisors displayed a Y shaped configuration composed of two pulp horns. The absence of one pulp horn was most pronounced in lower corner incisors (Triadan position 03). Those incisors mainly had only the labiomesial pulp horn. In general, pulp horns are placed labial to the infundibula and their position is indicated by the "dental star" on the occlusal surface (former pulp horn filled with secondary dentine).

Although our results showed a slight decrease in the pulpoocclusal distances with age, these findings should not lead to the general conclusion that incisor reduction in younger horses bears less risk of pulp exposure compared to incisor reduction in older horses. The most important finding of the current study was the very wide range of the pulpoocclusal distances of 0.7 mm up to 11.7 mm in upper and lower incisors. Thus, the clinical recommendation of *Rawlinson and Earley* for reducing incisors' height by 3 mm at max is theoretically safe considering the mean pulpoocclusal distances found in this study [13], but pulpar exposure is a consistent risk and can occur in incisors even when heights are reduced by less than 3 mm. As the occlusal surface undergoes constant wear the pulpoocclusal distances do not remain constant over a horse's life but are subject to dynamic changes. As soon as equine teeth come into wear, production of secondary dentine at the occlusal tip of the pulp horns is initiated. The secondary dentine is laid down over the pulp horns by odontoblasts to prevent occlusal exposure when incisors are worn down by attrition and abrasion [21]. The underlying causes for dentine deposition are not fully understood and are believed to be multifactorial, with a partial mechanical stimulus via the occlusal surface [8,10].

The finding of shorter pulpoocclusal distances in lower incisors than in upper incisors may imply that these incisors are subject to less mechanical stimuli via the occlusal surface. However, it is hard to confirm the mechanical stimuli odontoblast cell hypothesis *in vivo* because of limited possibility to precisely measure distances in a living horse.

The mean pulpoocclusal distances in incisors measured in our study were lower than subocclusal secondary dentine thickness in cheek teeth. According to several previous studies mean distances for subocclusal dentine thickness in cheek teeth range from 7.5 mm to 12 mm [5, 8 -10]. As we found in incisors, there is a wide range of subocclusal dentine thickness in cheek teeth with minimal values of 1.6 mm and maximum values of 33.8 mm [5, 10]. A likely explanation for the shorter pulpoocclusal distances in incisors can be found in their morphological difference. The primary function of incisors is to bite off the grass. They do not need to withstand the high abrasive forces during feed grinding that cheek teeth do. *Huthmann et al.* stated that masticatory forces in cheek teeth decrease in a rostral direction [22], hence incisors need to withstand less masticatory forces. Therefore, less dentine above the pulp horns in incisors may be needed to protect them from occlusal wear in comparison with cheek teeth. *White et al.* documented higher subocclusal dentine thickness in mandibular teeth than in maxillary teeth [10], proposing that mandibular cheek teeth have to withstand higher masticatory forces due to their smaller dimensions and therefore had a higher rate of secondary dentine deposition.

The mean pulpoocclusal distances in incisors obtained in our study were lower than the subocclusal secondary dentine thickness found in incisors by *Prost et al.* [12] who recorded a mean pulpoocclusal distance of 8.38 mm (range: 4.2 mm - 13.9 mm). *Prost et al.* performed measurements using conventional computed tomography and radiovisiography on 2D images, without reconstructing 3D models and reference planes. This difference in methods may account for the differences in subocclusal dentine thickness. Nevertheless, *Prost et al.* also emphasized the need for great care during incisors reduction due to the difficulty in predicting the pulpoocclusal distance [12].

When reducing incisors' height, there is not only a risk of pulpar exposure but there is potential for thermal damage to the equine pulp particularly with motorised dental instruments [23-26]. *O'Leary et al.* recommend water cooling to prevent thermal

damage to the pulp. *O'Leary et al.* and *Haeussler et al.* also noted that the temperature rise in equine pulp depends on subocclusal dentine levels [23,26]. Concerning the wide range of the pulpoocclusal distance of incisors documented in the current study, it seems logical that water cooling may help prevent thermal damage in incisors.

The pulpolabial distances increased with age in upper and lower incisors. Reducing incisor teeth in height during corrective dental procedures creates new sharp edges at the occlusal surface. Those edges are commonly rounded with burs or manual rasps, removing tooth substances from a labial direction. Given the mean pulpolabial distances of this study, rounding the labial edge of the incisors is likely to be safe providing only the edges are slightly rounded. Our findings of an increase (positive correlation) in pulpolabial distances with age also match the observation that the dental star (former pulp horn filled with secondary dentine) moves towards the centre of the incisor occlusal surface with age [27].

A major limitation of the current study was that records of previous dental care of the horses were not available. Correction of incisors abnormalities like a ventral or dorsal curvature malocclusion directly changes the forces on single incisors. Therefore, mechanical reduction of height might influence the production rate of secondary dentine and affect the pulpoocclusal distances. We studied a limited number of breeds and also had no information on management or feeding practices and therefore cannot comment on how these factors, or genetic factors, may have influenced our results. Nevertheless, by using high resolution microCT and powerful 3D analysis software we were able to measure pulpoocclusal and pulpolabial distances precisely (up to 0.1 mm). Selecting reference points in a reconstructed 3D model enabled measurements at the tip of the pulp cavity, which is difficult with manual slicing. However, microCT scans are limited to cadaveric material, as the size of objects is limited. There is a need for further microCT studies using a higher number of incisors and a large population of horses of a range of breeds to support clinical recommendations for incisors' reduction and endodontic therapies.

## Tables

Table 1. Occurrence and number of pulp horns.

incisor (Triadan position)	n	labiomesial and labiodistal	labiomesial only	labiodistal only
101/201	17	15	1	1
102/202	17	16	1	0
103/203	17	11	6	0
301/401	17	13	4	0
302/402	17	11	6	0
303/403	16	0	16	0

Table 2. Pulpoocclusal distances for upper and lower incisors.

	pulp horn	mean [mm]	s.d. [mm]	min [mm]	max [mm]
<b>upper incisors</b>	labiomesial	6.5	1.6	1.5	10.7
	labiodistal	7.2	1.7	3.2	11.7
<b>lower incisors</b>	labiomesial	4.1	1.2	0.7	6.4
	labiodistal	4.7	1.0	1.8	6.7

Table 3. Pulpolabial distances in upper and lower incisors.

	pulp horn	mean [mm]	s.d. [mm]	min [mm]	max [mm]
<b>upper incisors</b>	labiomesial	5.2	1.3	3.7	9.0
	labiodistal	5.0	1.1	3.5	7.7
<b>lower incisors</b>	labiomesial	5.6	1.1	3.8	8.1
	labiodistal	5.1	0.9	3.9	6.8

## Figures

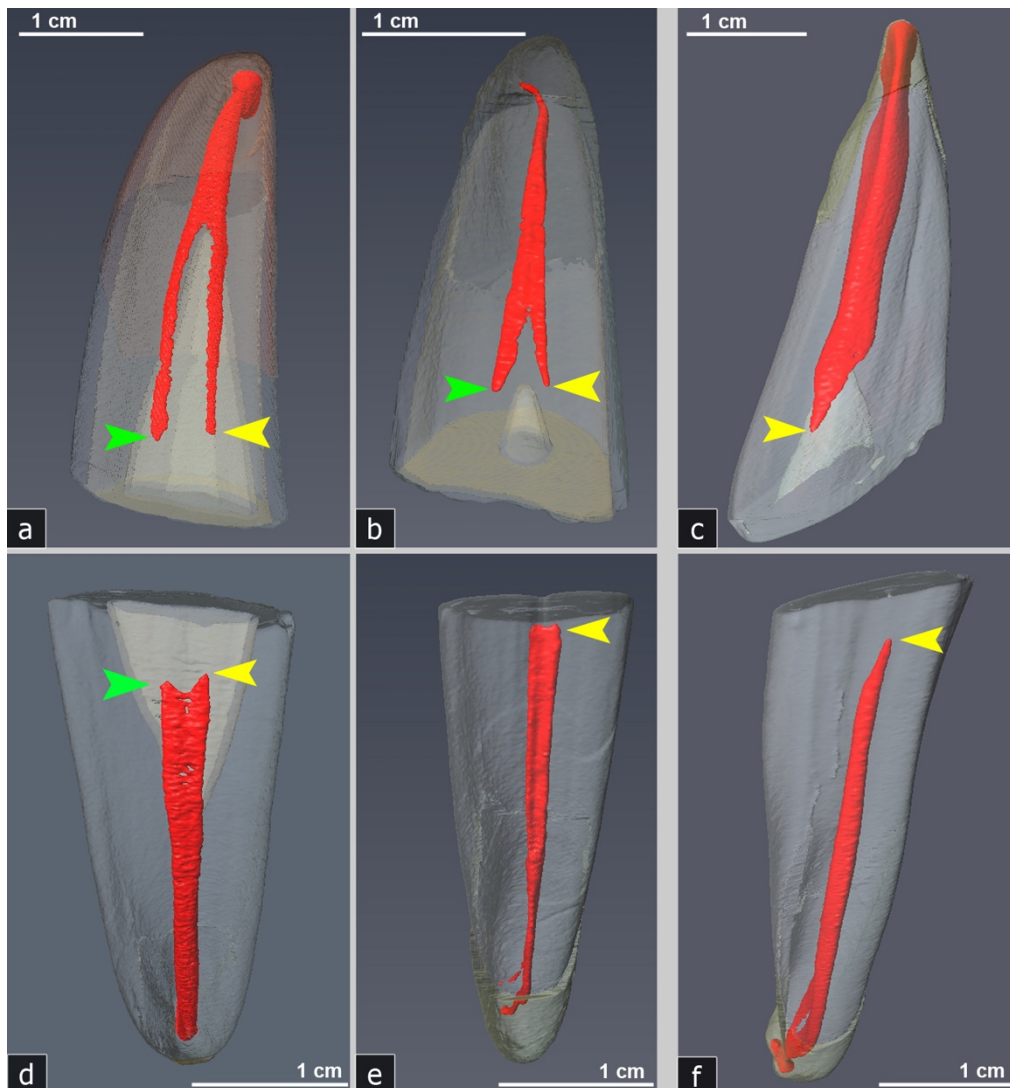


Figure 1: 3D models of upper (a-c) and lower (d-f) incisors.

View on labial tooth surface.

Transparent white = enamel, transparent grey = dentine + cementum, red = pulp cavity.

Green arrow = labiodistal pulp horn, yellow arrow = labiomésial pulp horn.

a: 3.5 year old tooth, position 101 b: 15 year old tooth, position 101 c: 1.5 year old tooth, position 203 d: 3.5 year old tooth, position 401 e: 15 year old tooth, position 401 f: 5.5 year old tooth, position 403

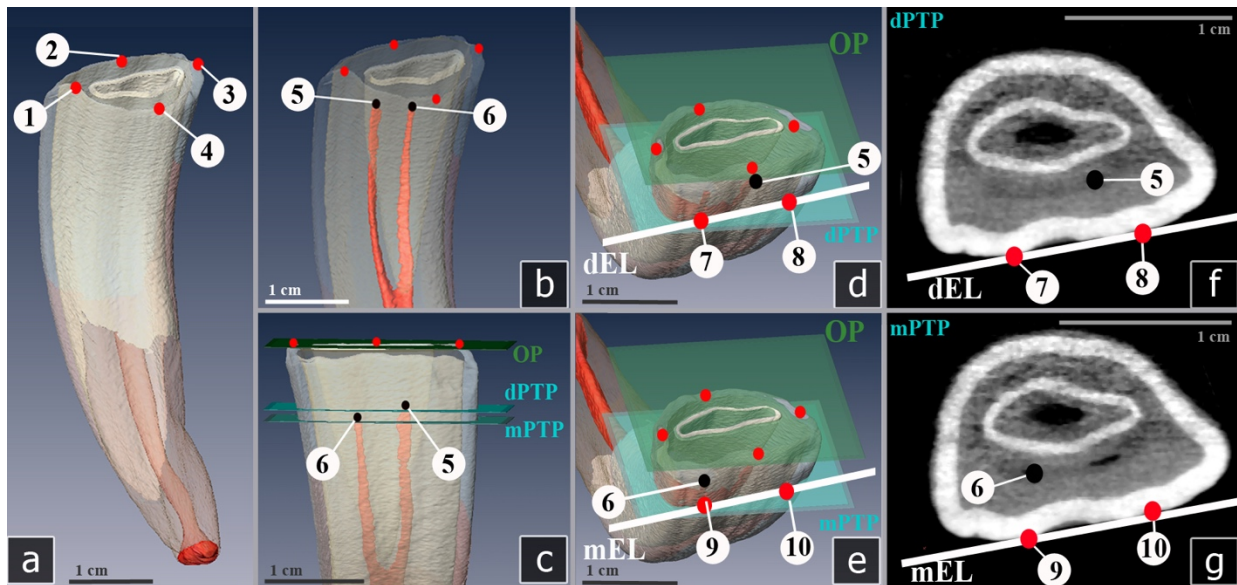


Figure 2: a - e: 3D model of an upper right central incisor (Triadan 101). f and g: 2D microCT image of an upper right central incisor (Triadan 101).

Transparent white = enamel, transparent grey = dentine + cementum, red = pulp cavity.

Numbers indicate enamel reference points in red and pulp horn tip reference points in black.

a: View on palatal tooth surface. Enamel reference points were selected at the most distal (1), labial (2), mesial (3) and palatal (4) aspects of the occlusal surface.

b: View on palatal tooth surface. Pulp horn tip reference points were selected at the most occlusal part of the labiodistal aspect (5) and labiomesial aspect (6) of the pulp horns.

c: View on labial tooth surface. The enamel reference points were used to calculate an enamel occlusal reference plane. This plane was moved in apical direction until occlusal dentine reached contact. Subsequently the dentinal occlusal plane (dOP) was calculated. Using the pulp horn tip reference points, the labiodistal pulp horn tip plane (ldPTP) and the labiomesial pulp horn tip plane (lmPTP) were calculated.

d, f: View on occlusal tooth surface. Two reference points (7 and 8) at the most labial aspect of the enamel cover at the height of the ldPTP were used to construct a distal enamel auxiliary line (dEL).

e, g: View on occlusal tooth surface. Two reference points (9 and 10) at the most labial aspect of the enamel cover at the height of the lmPTP were used to construct a mesial enamel auxiliary line (mEL).



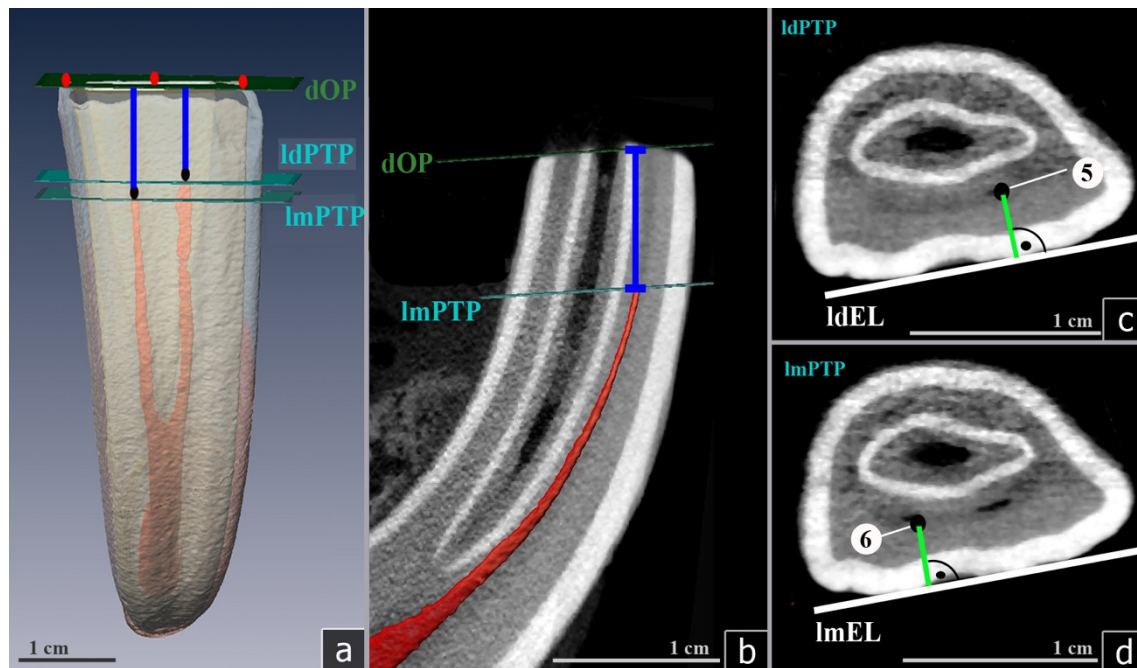


Figure 3: 3D model of an upper right central incisor (Triadan 101).

a: View on labial tooth surface. Transparent white = enamel, transparent grey = dentine + cementum, red = pulp cavity. The blue lines indicate the distances between the dentinal occlusal plane (dOP) and the labiodistal pulp tip plane (ldPTP) and the labiomesial pulp tip plane (lmPTP), representing the pulpoocclusal distance above pulp horns.

b: 2D microCT image of tooth 101 shown in a. Sagittal view. Pulp cavity = red, enamel = light grey, dentine and cementum = dark grey. Blue line representing the pulpoocclusal distance between lmPTP and dOP.

c: 2D microCT image of tooth 101 shown in a. Transversal view at the height of the ldPTP. A green line was constructed perpendicular between the labiodistal pulp tip reference point (5) and the labiodistal enamel auxiliary (ldEL) line to measure the pulpolabial distance (distance of the pulp horn to the labial aspect).

d: 2D microCT image of tooth 101 shown in a. Transversal view at the height of the lmPTP. A green line was constructed perpendicular between the labiomesial pulp tip reference point (6) and the labiomesial enamel auxiliary line (lmEL) to measure the pulpolabial distance (distance of the pulp horn to the labial aspect).

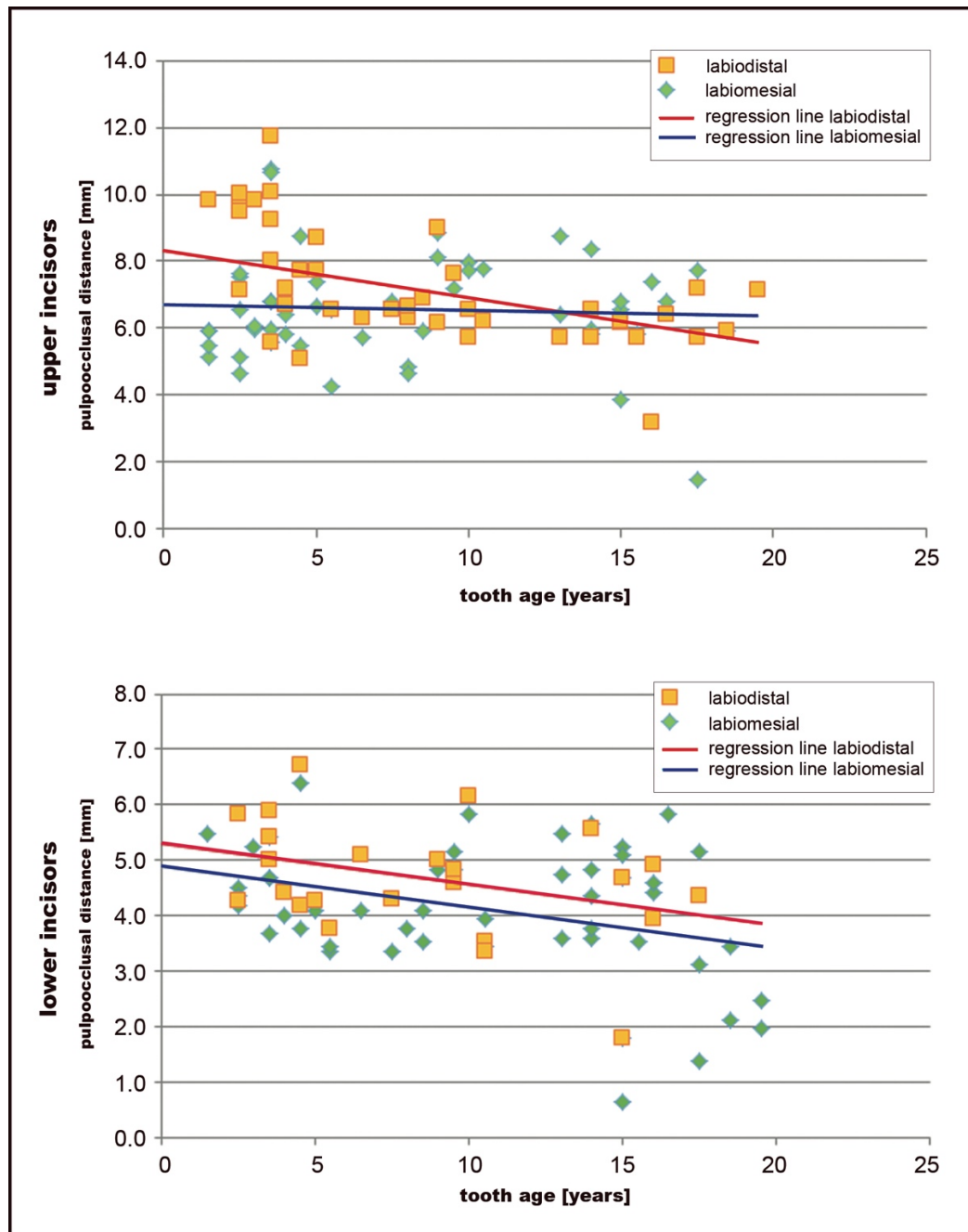


Figure 4: Dot plot of pulpocclusal distances in upper and lower incisors.

Correlation between pulpocclusal distance and tooth age for labiomésial and labiodistal pulp horns in upper and lower incisors. Negative correlation in upper incisors was moderate ( $R = -0.56$ ,  $p < 0.001$ ) for labiodistal pulp horn distances and not significant ( $R = -0.06$ ,  $p = 0.68$ ) for labiomésial pulp horn distances. Negative correlation in lower incisors was not significant for labiodistal pulp horn distances ( $R = -0.35$ ,  $p = 0.098$ ) and moderate for labiomésial pulp horn distances ( $R = -0.34$ ,  $p = 0.015$ ).

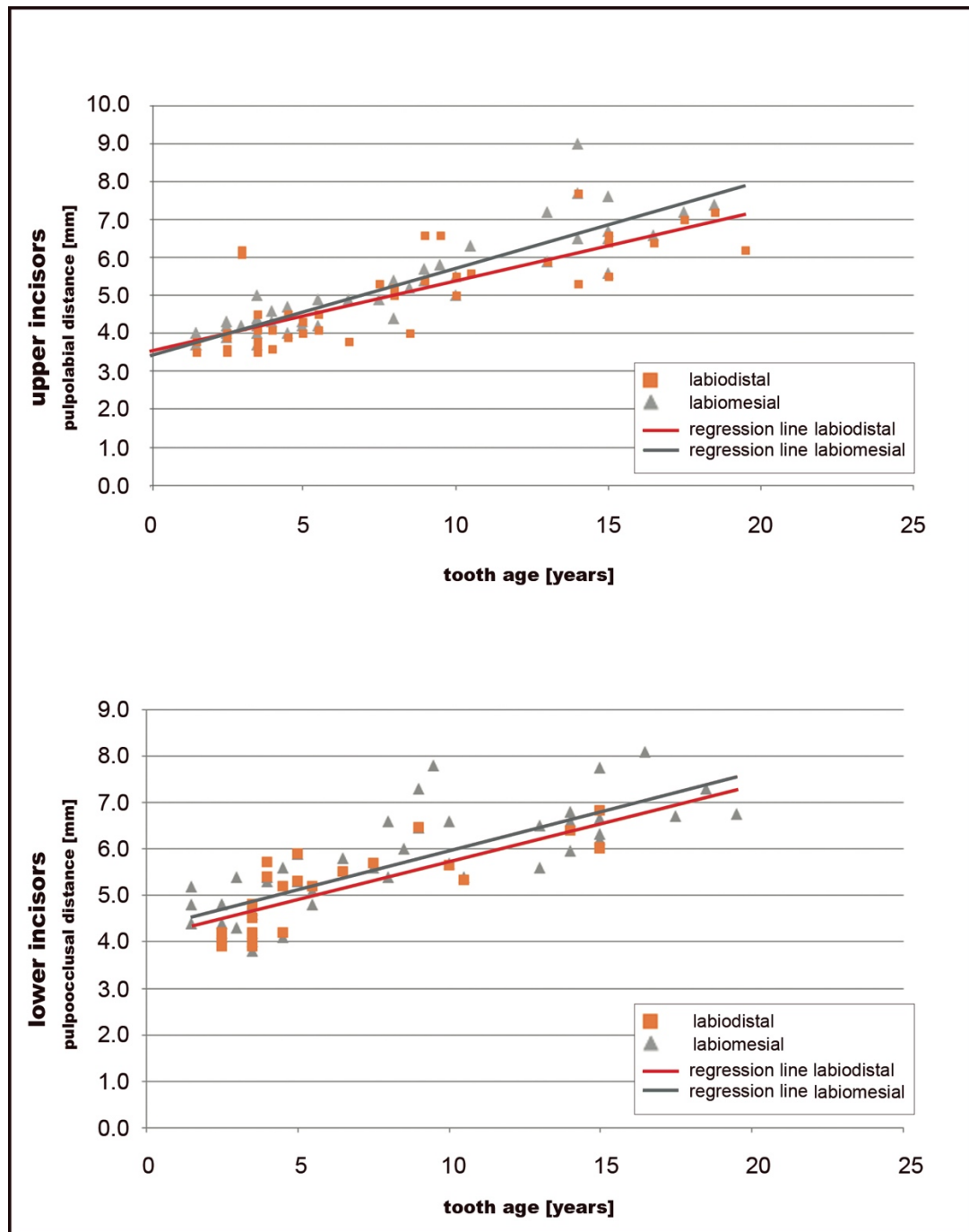


Figure 5: Dot plot of pulp labial distances in upper and lower incisors.

Correlation between pulp labial distance and tooth age for labiomesial and labiodistal pulp horns in upper and lower incisors. Positive correlation in upper incisors was higher ( $R = 0.78$ ,  $p < 0.001$ ) for labiodistal pulp horn distances and strong ( $R = 0.89$ ,  $p < 0.001$ ) for labiomesial pulp horn distances.

Positive correlation in lower incisors was strong ( $R = 0.9$ ,  $p < 0.001$ ) for labiodistal pulp horn distances and for labiomesial pulp horn distances ( $R = 0.86$ ,  $p < 0.001$ ).

The influence of tooth age was significant for all pulphorns.

### **Manufactures' details:**

<sup>1</sup> (Kolbe GmbH, Echlingen, Germany)

<sup>2</sup> (Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland).

<sup>3</sup> (FEI Corporate Headquarters, Hillsboro, Oregon, USA)

<sup>4</sup> (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)

### **References**

[1] Easley, J. (2013) Advances in equine dentistry. In: *Vet Clin N Am Equine Pract*, Saunders, Philadelphia, Pa.; London. 257-540.

[2] Klugh, D.O. (2010) Principles of Occlusal Equilibration. In: *Principles of equine dentistry*, 1<sup>st</sup> edn, Manson Publishing, London. pp 69-78.

[3] Foster, D.L. (2013) The gold standard of dental care for the adult performance horse. *Vet Clin N Am Equine Pract* 29, 505-519.

[4] Rucker, B.A. (2004) Equine cheek teeth angle of occlusion: How to calculate and clinical use for incisor shortening. *Equine Vet Educ* 16, 137-142.

[5] Bettiol, N. and Dixon, P.M. (2011) An anatomical study to evaluate the risk of pulpar exposure during mechanical widening of equine cheek teeth diastemata and 'bit seating'. *Equine Vet J* 43, 163-169.

[6] Dacre, I.T., Kempson, S. and Dixon, P.M. (2008) Pathological studies of cheek teeth apical infections in the horse: 1. Normal endodontic anatomy and dentinal structure of equine cheek teeth. *Vet Jour* 178, 311-320.

[7] Kopke, S., Angrisani, N. and Staszky, C. (2012) The dental cavities of equine cheek teeth: three-dimensional reconstructions based on high resolution micro-computed tomography. *BMC Vet Res* 8, 173.

- [8] Marshall, R., Shaw, D.J. and Dixon, P.M. (2012) A study of sub-occlusal secondary dentine thickness in overgrown equine cheek teeth. *Vet Jour* 193, 53-57.
- [9] Shaw, D.J., Dacre, I.T. and Dixon, P.M. (2008) Pathological studies of cheek teeth apical infections in the horse: 2. Quantitative measurements in normal equine dentine. *Vet Jour* 178, 321-332.
- [10] White, C. and Dixon, P.M. (2010) A study of the thickness of cheek teeth subocclusal secondary dentine in horses of different ages. *Equine Vet J* 42, 119-123.
- [11] Klugh, D.O. (2003) Equine incisor pulp canals: a closer look. In: *17th Annual Veterinary Dental Forum*. pp 200-202.
- [12] Prost, M.L., Nowicka, A., Lichota, D., Wozniak, K., Dura, W. and Lipski, M. (2014) Assessment of subocclusal secondary dentin thickness in equine incisors. *Med Weter* 70, 502-507.
- [13] Rawlinson, J.T. and Earley, E. (2013) Advances in the treatment of diseased equine incisor and canine teeth. *Vet Clin N Am Equine Pract* 29, 411-440.
- [14] Muylle, S., Simoens, P. and Lauwers, H. (1996) Ageing horses by an examination of their incisor teeth: an (im)possible task? *Vet Rec* 138, 295-301.
- [15] Muylle, S., Simoens, P. and Lauwers, H. (1999) Age-related morphometry of equine incisors. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A* 46, 633-643.
- [16] Martin, M.T. (2007) Guide for determining the age of the horse. AEEP, Lexington, USA.
- [17] Schrock, P., Lüpke, M., Seifert, H. and Staszky, C. (2013) Three-dimensional anatomy of equine incisors: tooth length, enamel cover and age related changes. *BMC Vet Res* 9, 249.

- [18] Deng, S.M., Zhang, W., Zhang, B., Chen, Y.Y., Li, J.H. and Wu, Y.W. (2015) Correlation between the Uptake of <sup>18</sup>F-Fluorodeoxyglucose (<sup>18</sup>F-FDG) and the Expression of Proliferation-Associated Antigen Ki-67 in Cancer Patients: A Meta-Analysis. *PLoS One* 10, e0129028.
- [19] Landis, J.R. and Koch, G.G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33, 159-174.
- [20] Dixon, P.M., Du Toit, N. and Staszky, C. (2013) A fresh look at the anatomy and physiology of equine mastication. *Vet Clin N Am Equine Pract* 29, 257-272.
- [21] Staszky, C., Suske, A. and Pöschke, A. (2015) Equine dental and periodontal anatomy: A tutorial review. *Equine Vet Educ* 27, 474-481.
- [22] Huthmann, S., Staszky, C., Jacob, H.-G., Rohn, K. and Gasse, H. (2009) Biomechanical evaluation of the equine masticatory action: calculation of the masticatory forces occurring on the cheek tooth battery. *J Biomech* 42, 67-70.
- [23] O'Leary, J.M., Barnett, T.P., Parkin, T.D.H., Dixon, P.M. and Barakzai, S.Z. (2013) Pulpar temperature changes during mechanical reduction of equine cheek teeth: comparison of different motorised dental instruments, duration of treatments and use of water cooling. *Equine Vet J* 45, 355-360.
- [24] Allen, M.L., Baker, G.J., Freeman, D.E., Holmes, K.R., Marretta, S.M., Scoggins, R.D. and Constable, P. (2004) In vitro study of heat production during power reduction of equine mandibular teeth. *J Am Vet Med Assoc* 224, 1128-1132.
- [25] Wilson, G.J. and Walsh, L.J. (2005) Temperature changes in dental pulp associated with use of power grinding equipment on equine teeth. *Aust Vet J* 83, 75-77.
- [26] Haeussler S, Lüpke M, Seifert H and Staszky C. (2013) A reliable measuring method for heat transfer in equine cheek teeth. *Wien Tierarztl Monat* 100, 171-180.

[27] Muylle, S., Simoens, P. and Lauwers, H. (2002) A study of the ultrastructure and staining characteristics of the 'dental star' of equine incisors. *Equine Vet J* 34, 230-234.

### **Supplementary Information Items**

Supplementary Item 1. Pulpoocclusal distances with breed, sex and age of the horses included in this study.

Supplementary Item 2. Pulpolabial distances with breed, sex and age of the horses included in this study.

## 4 Übergreifende Diskussion

### 4.1 Der Einsatz von $\mu$ -Computertomographie in der Veterinärmedizin

In dieser Arbeit wurde zur Bearbeitung der beiden Fragestellungen auf eine technisch relativ neue Methode – dem Einsatz von  $\mu$ CT – zurückgegriffen.  $\mu$ CT wird in der Forschung generell in unterschiedlichen, naturwissenschaftlichen Bereichen eingesetzt (Mizutani und Suzuki, 2012), um komplexe biologische Strukturen sichtbar zu machen. Der Einsatz von  $\mu$ CT ermöglicht hierbei gegenüber einem Lichtmikroskop, diese Strukturen nichtinvasiv im Dreidimensionalen sichtbar zu machen und zu untersuchen (Mizutani und Suzuki, 2012). Vorausgehende Arbeiten haben gezeigt, dass der Einsatz von  $\mu$ CT eine passende Untersuchungsmethode zur Beantwortung komplexer, anatomisch-morphologischer Fragestellungen speziell am Pferdegebiss darstellt (Kopke et al., 2012; Schrock et al., 2013a; Schrock et al., 2013b; Schrock et al., 2013c; Listmann et al., 2016; Listmann et al., 2017; Suske et al., 2016a; Suske et al., 2016b).

Ein großer Vorteil der  $\mu$ CT gegenüber der konventionellen CT liegt in der drastisch gesteigerten Auflösung, welche maßgeblich über die Schichtdicken der zu untersuchenden Objekte definiert wird. Dies wird bei der Betrachtung der Schichtdicken zwischen  $\mu$ CT und konventioneller CT deutlich. So beträgt die Schichtdicke des für die morphologischen Untersuchungen der Backen- und Schneidezähne verwendeten  $\mu$ -Computertomographen<sup>2</sup> 0,082 mm bzw. 0,041 mm. Im Vergleich dazu beträgt die Schichtdicke eines in der Pferdezahnheilkunde<sup>3</sup> eingesetzten konventionellen Computertomographen<sup>4</sup> 0,75 mm. Somit ist die Auflösung im Vergleich zwischen den Schichtdicken von  $\mu$ CT und CT in diesem Fall in etwa 9,1-mal bzw. 18,3-mal höher. Diese gesteigerte Auflösung wirkt sich somit direkt auf die Genauigkeit der Ergebnisse der in dieser Arbeit untersuchten Fragestellungen aus. Dank den hochauflösenden  $\mu$ CT Aufnahmen konnte bei der Erfassung der einzelnen Zahnschichten entlang der Längsachse der Zahnkrone

---

<sup>2</sup> XtremeCT, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz

<sup>3</sup> Tierklinik Gesserthausen

<sup>4</sup> Somatom Definition, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland



von Backenzähnen Schmelz von Dentin und Zement anhand der verschiedenen Grauwerte präzise getrennt werden. Außerdem ermöglichte die geringe Schichtdicke der verwendeten  $\mu$ CT Aufnahmen die für die Berechnungen der Mengenverteilung notwendige Länge der anatomischen Backenzahnkrone präzise zu erfassen. Ebenfalls stellte die hohe Auflösung der  $\mu$ CT Aufnahmen bei der Untersuchung der Zahnpulpamorphologie in equinen Schneidezähnen einen Vorteil dar. So konnten die Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und Facies labialis dank den  $\mu$ CT Aufnahmen präzise im Submillimeterbereich erfasst werden. Dies wäre bei einer manuellen, makroskopischen Erfassung nicht ohne Weiteres mit der gleichen Präzision möglich gewesen.

Ein weiterer Vorteil der  $\mu$ CT für morphologische Untersuchungen am Pferdegebiss, wie bereits von Mizutani beschrieben (Mizutani und Suzuki, 2012), besteht darin nichtinvasiv biologische Strukturen sichtbar zu machen und zu untersuchen. Bei der Rekonstruktion der Pulparäume in den 3D Modellen der Schneidezähne konnten somit die feinen Pulpahörner sichtbar gemacht werden und deren Lokalisation sowie Anzahl in Relation zum Infundibulum exakt bestimmt werden. Diese Beschreibung der Formvariation und die Messung der Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und labialis wären bei einer konventionellen, morphologischen Untersuchung so nicht ohne Weiteres möglich gewesen, da die Pulpahörner teils sehr fein ausgeprägt sind. Für eine konventionelle Messung muss hierbei der Schneidezahn zunächst mit einer Säge zerteilt werden, jedoch kann so die exakte Spitze der Zahnpulpa durch den Anschnitt verfehlt werden, was letztendlich direkt die Genauigkeit der gemessenen Abstände beeinflusst. Ein weiterer Vorteil, Abstände an den anhand von  $\mu$ CT Aufnahmen rekonstruierten 3D Modellen zu ermitteln, besteht darin, dass jeder beliebige Punkt im 3D Modell als Basis zur Streckenmessung herangezogen werden kann.

Mit der  $\mu$ CT kann die Auflösung und damit die Qualität der von den zu untersuchenden Objekte gegenüber der konventionellen CT deutlich gesteigert werden. Allerdings ist bei der  $\mu$ CT die zu untersuchende Objektgröße technisch bedingt limitiert und kommt so nicht für ein lebendes Objekt in Frage. Damit besteht ein klarer Nachteil der  $\mu$ CT gegenüber anderen bildgebenden

Untersuchungsmethoden, wie der konventionellen CT darin, dass keine linearen, vergleichenden Studien (z.B. mit zeitlichem Abstand wiederholte Untersuchungen an einem Patienten oder Studienobjekt) durchgeführt werden können. Letztendlich ist der finanzielle und zeitliche Aufwand der Anfertigung der  $\mu$ CT Aufnahmen hoch im Vergleich zu direkten, makroskopischen Untersuchungen an Backen- oder Schneidezähnen und sollte bei einer anatomischen Studienplanung bedacht werden.

## **4.2 Morphologische Aspekte**

### **4.2.1 Morphologische Aspekte der Substanzverteilung in equinen Backenzähnen**

Bisher blieb die Fragestellung in der Literatur unbeantwortet, wie sich der Gehalt der Zahnschubstanzen Schmelz, Dentin und Zement entlang der Längsachse der Zahnkrone beim domestizierten Pferd (*Equus caballus*) verhält. Die relativen und absoluten Ergebnisse unserer computertomographischen Untersuchungen zeigen, dass in apikaler Richtung sowohl in den Oberkieferbackenzähnen wie auch in den Unterkieferbackenzähnen der Schmelzgehalt abnimmt und der Dentingehalt zunimmt. Ebenfalls zeigt sich in unseren Untersuchungen eine dramatische Zunahme der peripheren Zementmenge von intraalveolar nach extraalveolar. Unsere Ergebnisse sind teils überraschend im Vergleich zu computertomographischen Untersuchungen bei anderen equinen Spezies wie dem Steppenzebra (*Equus quagga*) (Winkler et al., 2015). Bei dem von Winkler et al. (Winkler et al., 2015) untersuchten Zebra wurde der höchste Schmelzgehalt im apikalen Bereich festgestellt. Dieser nahm somit in apikaler Richtung entlang der Längsachse der Zahnkrone zu und nicht wie in unseren Untersuchungen festgestellt, ab. Allerdings unterscheidet sich unsere methodische Vorgehensweise zu der von Winkler et al.. So hatten Winkler et al. die Backenzähne in 4 separat vermessene Bereiche aufgeteilt (Winkler et al., 2015), im Gegensatz zu den in unserer Arbeit untersuchten Mengen an einzelnen, selektierten Schnittebenen entlang der Zahnachse. Ebenfalls lassen sich Unterschiede im jeweiligen untersuchten Probenmaterial festhalten. Winkler et al. untersuchten das Gebiss eines Zebras (*Equus quagga*), während in unserer Arbeit ausschließlich Zähne von domestizierten Pferden (*Equus caballus*) untersucht

worden sind. Es sei betont, dass es sich außerdem bei dem untersuchten Gebiss des Zebras um ein junges Tier handelte (Winkler et al., 2015), die Zähne waren somit nach dem Durchbruch nur relativ kurz einem Abrieb durch Attrition (Zahn zu Zahn Kontakt) und Abrasion (Zahn zu Futter Kontakt) ausgesetzt (Mair, 1992). Im Allgemeinen weisen die hypsodonten Backenzähne bei Equiden kurz nach dem Durchbruch von Zement umgebene Schmelzhöcker zur Kaufläche hin auf. Es wird spekuliert, dass diese Schmelzhöcker zu einem schnelleren Abrieb führen und somit das Erreichen einer funktionellen sekundären Kaufläche aus Schmelzleisten und Dentinbecken begünstigen (Winkler et al., 2015). Bei den in unserer Arbeit untersuchten Backenzähnen handelte es sich jedoch um bereits in Reibung befindliche Zähne, welche sich somit strukturell vom juvenilen Gebiss des Zebras unterscheiden. Die Unterschiede im Probenmaterial und der methodischen Vorgehensweise zwischen Winkler et al. und unserer Arbeit stellen somit eine mögliche Erklärung zu den unterschiedlichen, morphologischen Ergebnissen im Schmelzgehalt entlang der Längsachse von Backenzähnen zwischen den beiden untersuchten Spezies Zebra und Pferd dar.

Equine Backenzähne sind durch eine charakteristische Struktur der Zahnhartsubstanzen an den Kauflächen aus Zement, Dentinbecken und Schmelzleisten gekennzeichnet (Staszyk, 2015). Ein bemerkenswerter morphologischer Unterschied zwischen Ober- und Unterkieferbackenzähnen findet sich durch das Vorhandensein zweier Schmelzbecher in den Oberkieferbackenzähnen, den sogenannten Infundibula, welche erheblich zum gesamten Schmelzgehalt an den Kauflächen beitragen (Staszyk, 2015). Als Gemeinsamkeit der Ober- und Unterkieferbackenzähne lässt sich festhalten, dass der Zahnschmelz teils in sehr feinen Falten an der Kaufläche vorliegt (Suske et al., 2016b; Kilic et al., 1997a). Die Ausprägung der Schmelzfalten in Unterkieferbackenzähnen wird von Kilic et al. (Kilic et al., 1997a) als deutlicher gegenüber den Schmelzfalten von Oberkieferbackenzähnen beschrieben. Somit scheint die deutlichere Ausprägung der Schmelzfalten in Unterkieferbackenzähnen das Fehlen der Infundibula zu kompensieren (Kilic et al., 1997a). Des Weiteren wurde eine Abnahme der Ausprägung dieser Schmelzfalten in Ober- und Unterkieferbackenzähnen nach apikal hin beschrieben (Dixon et al., 2013). Diese

Beobachtung deckt sich somit mit unseren Ergebnissen der Abnahme der Schmelzmenge entlang der Längsachse der Backenzahnkrone in apikaler Richtung. Jedoch wurde auch in unseren Untersuchungen eine deutliche Zunahme der Dentinmenge in apikaler Richtung festgestellt, welche die Abnahme der Schmelzmenge in apikaler Richtung letztendlich zu kompensieren scheint.

Beim Schmelz handelt es sich um die härteste Substanz im Körper (Caldwell et al., 1957; Craig et al., 1958; Winkler und Kaiser, 2015). Dentin und Zement sind im Vergleich dazu weniger mineralisiert und weisen somit nicht dieselbe Härte wie Schmelz auf (Dixon et al., 2013). Folglich sollte der Schmelz aufgrund der höheren Härte auch eine höhere Widerstandskraft gegenüber dem Abrieb durch Attrition und Abrasion im Vergleich zum Dentin und Zement aufweisen. Überträgt man diese Schlussfolgerungen auf unsere Ergebnisse, die zeigen, dass die Menge des Schmelzes nach apikal abnimmt, wobei die Menge des Dentins zunimmt, kann man von einer generellen Abnahme der Härte der Kaufläche beim Pferd und somit einer Abnahme der Widerstandskraft gegenüber dem Abrieb mit dem Alter ausgehen. Diese Arbeitshypothese deckt sich jedoch nicht mit klinischen Beobachtungen von Allen und Griffin et al., dass die Kauflächen von Pferden mit zunehmenden Alter eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber den bei der Pferde Zahnheilkunde eingesetzten Schleifgeräten vorweisen (Allen, 2008; Griffin, 2013) und folglich eine härtere Kaufläche aufweisen sollen. Es werden deshalb noch weitere Einflüsse vermutet, welche eine Zunahme der Härte und damit einhergehend die Widerstandskraft gegenüber dem Abrieb mit dem Alter bedingen. Es ist bemerkenswert, dass equine Backenzähne auch nach dem Durchbruch eine für bis zu 5 Jahre anhaltende Mineralisierung der Zahnschubstanz durch Zellen im Alveolarfach besitzen (Hoppe et al., 2004; Staszky, 2015). Daher sind Anteile der Zahnkrone, welche sich im Alveolarfach befinden über eine längere Dauer den Mineralisierungsprozessen ausgesetzt. Es kann somit angenommen werden, dass diese Anteile der Zahnkrone im Alveolarfach - welche mit voranschreitendem Alter an der Kaufläche exponiert werden - eine höhere Härte und damit Widerstandskraft der Zahnschubstanz gegenüber dem Abrieb an den Kauflächen aufweisen. Diese Annahme stellt somit eine mögliche Erklärung dar, die Ergebnisse unserer Untersuchung (Abnahme Schmelzmenge, Zunahme Dentinmenge mit dem Alter) mit

den klinischen Beobachtungen von Allen und Griffin (Zunahme Widerstandsfähigkeit der Kaufläche mit dem Alter) in Einklang zu bringen. Ferner konnte in Untersuchungen an equinen Schneidezähnen gezeigt werden, dass die gemessene Härte von Dentin an den Kauflächen niedriger war als in mittleren Bereichen der Schneidezahnkrone (Muylle et al., 1999; Du Toit et al., 2008b). Wenn diese mittleren Bereiche der Zahnkrone schließlich mit voranschreitendem Alter an der Kaufläche exponiert werden, ist somit eine Zunahme der Härte von Dentin an den Kauflächen annehmbar. Überträgt man diese Schlussfolgerung auf die Ergebnisse unserer Untersuchungen im Backenzahnbereich, so wird die gemessene Zunahme der Menge an Dentin an der Kaufläche mit dem Alter durch eine höhere Härte und damit höhere Widerstandsfähigkeit ergänzt. Verlässliche Studien bezüglich der vorgestellten Schlussfolgerungen zum Mineralisierungsgrad der Zahnschmelzen und zu den klinischen Beobachtungen von Allen und Griffin (Allen, 2008; Griffin, 2013), wonach Backenzähne eine größere Härte und damit Widerstandskraft gegenüber dem Abrieb mit dem Alter aufweisen, fehlen allerdings. Weitere Studien dazu sind wünschenswert um unsere quantitativen Untersuchungen der Zahnhartsubstanzen in Backenzähnen durch qualitative Messungen zu ergänzen.

In unseren Untersuchungen konnte leider nicht abschließend geklärt werden, ob sich der Schmelzgehalt zwischen den einzelnen Zahnpositionen in Ober- und Unterkieferbackenzähnen signifikant unterscheidet. Untersuchungen mit anderen herbivoren, hypsodonten Spezies zeigen, dass sich der Schmelzgehalt zwischen den Zahnpositionen signifikant unterscheidet, wobei der M3 (11)<sup>5</sup> hierbei den höchsten Schmelzgehalt im Gebiss aufweist (Winkler und Kaiser, 2015). Diese phylogenetisch-unabhängigen Untersuchungen von Winkler und Kaiser (Winkler und Kaiser, 2015) legen nahe, dass dies ebenfalls auf die Spezies *Equus caballus* zutreffen kann. Aufgrund des Probenumfangs der untersuchten Backenzähne wurden in unseren Untersuchungen jedoch alle Zähne der Positionen 07 - 10 zusammenfassend nach Ober- und Unterkieferbackenzähnen getrennt untersucht. Ferner wurden die Backenzähne der Positionen 06 und 11 aufgrund des charakteristischen Unterschiedes in deren Morphologie bei der Anfertigung unserer Studie nicht

---

<sup>5</sup> Die Benennung einzelner Zähne erfolgt gemäß einem modifizierten Triadan-System (Floyd 1991; Triadan 1972)

berücksichtigt. Der Stichprobenumfang der Positionen 07 - 10 erwies sich im Rahmen der statistischen Auswertung als ausreichend, um einen signifikanten Unterschied entlang der Längsachse der Zahnkrone festzustellen. Jedoch war die Anzahl an Backenzähnen der individuellen Positionen 06 und 11 nicht ausreichend, um einen Unterschied des Schmelzgehaltes zwischen den einzelnen Zahnpositionen feststellen zu können. Hierzu wären weitere mikrocomputertomographische Untersuchungen mit einer höheren Anzahl von Backenzähnen notwendig und wünschenswert, um abschließend zu klären ob die Beobachtungen zum unterschiedlichen Schmelzgehalt der einzelnen Backenzähne von Winkler et al. auch für die Spezies des domestizierten Pferdes (*Equus caballus*) zutreffen.

#### **4.2.2 Morphologische Aspekte der Pulparaumkonfiguration und der Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und labialis in equinen Schneidezähnen**

Die Fragestellung, inwiefern die vitale Pulpa bis zur Facies occlusalis (Kaufläche) in equinen Schneidezähnen reicht, bleibt in der Literatur bisher nur ungenügend beantwortet (Klugh, 2003; Klugh, 2010; Prost et al., 2014). Allerdings wird in der Literatur die Beantwortung dieser Fragestellung aufgrund des routinemäßigen Abschleifens der Schneidezähne und der Gefahr einer Pulpaeröffnung im Rahmen einer Zahnbehandlung gefordert (Rawlinson und Earley, 2013).

Eine morphometrische Erfassung der Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und Facies labialis kann jedoch nicht ohne eine vorausgehende morphologische Beschreibung erfolgen. Deshalb wurden neben den Abständen zur Facies occlusalis und labialis auch die Konfiguration der Schneidezahnpulpa, insbesondere die der Pulpahörnern in unserer Arbeit untersucht. Unsere Untersuchungen zu den Pulpahörnern ergaben, dass wie bereits durch mehrere Autoren beschrieben (Schrock et al., 2013c; Dixon et al., 2013; Staszuk et al., 2015), der Pulparaum in equinen Schneidezähnen sich in einen Pulpakanal und zwei Pulpahörner aufteilt. Diese zwei Pulpahörner werden nach ihrer Lokalisation in Relation zum Infundibulum als labiomesial und labiodistal bezeichnet (Schrock et al., 2013c; Dixon et al., 2013; Staszuk et al., 2015). Jedoch zeigte sich in unserer Untersuchung auch, dass nicht immer beide Pulpahörner, insbesondere in Unterkieferschneidezähnen der

Zahnposition 03, ausgebildet sind. Das Vorhandensein lediglich eines Pulpahornes stellt somit eine neue Erkenntnis bezüglich der Anatomie der Zahnpulpa in equinen Schneidezähnen dar.

In den Untersuchungen zum Abstand der Pulpahörner zur Facies occlusalis zeigte sich eine deutliche Spanne der gemessenen Werte. Diese betrugen im Durchschnitt zwar zwischen 6,5 mm / 7,2 mm (labiomesial / labiodistal) in Oberkieferschneidezähnen und 4,1 mm / 4,7 mm (labiomesial / labiodistal) in Unterkieferschneidezähnen, jedoch schwankten die gemessenen Werte erheblich mit einer Spanne von insgesamt 0,7 mm bis zu 11,7 mm. Diese Ergebnisse sind relevant bei einer Zahnbehandlung, um eine mögliche Pulpaeröffnung beim Abschleifen von Schneidezähnen zu vermeiden (Rucker, 2004; Bettiol und Dixon, 2011). Vergleicht man unsere Messungen mit der Empfehlung von Rawlinson und Earley (Rawlinson und Earley, 2013) maximal 3 mm Zahnschubstanz von den Kauflächen in Schneidezähnen bei einer Behandlung abzuschleifen, so lässt sich Folgendes festhalten. Betrachtet man die gemessenen Durchschnittswerte, kann diese Empfehlung theoretisch als sicher angesehen werden, aber durch die weite Streuung der gemessenen Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis besteht das Risiko einer Pulpaeröffnung, auch wenn weniger als der empfohlene Maximalwert von 3 mm abgetragen wird. Es sollte deshalb bei einer Schneidezahnkürzung im Rahmen einer Zahnbehandlung vorsichtig und restriktiv vorgegangen werden. Bisherige Studien von Prost et al. geben einen Durchschnittswert von 8,38 mm mit einer Streuung von 4,2 mm - 13,9 mm für den Abstand der Zahnpulpa zur Facies occlusalis in Schneidezähnen an (Prost et al., 2014). Im Vergleich zu den von Prost et al. gemessenen Werten der Zahnpulpa zur Facies occlusalis sind die eigenen gemessenen Durchschnittswerte mit 6,5 mm / 7,2 mm (labiomesial / labiodistal) für Oberkieferschneidezähne und 4,1 mm / 4,7 mm (labiomesial / labiodistal) für Unterkieferschneidezähne niedriger. Eine mögliche Erklärung für diesen Unterschied findet sich in der methodischen Vorgehensweise zwischen Prost et al. und unserer Arbeit. So untersuchten Prost et al. (Prost et al., 2014) anhand von Röntgen- und konventioneller Computertomographieaufnahmen die Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und nicht mittels von  $\mu$ CT Aufnahmen rekonstruierten 3D Modellen. Es ist deshalb denkbar, dass nicht die tatsächlich am weitesten okklusal gelegene

Pulpaspitze aufgrund der sehr feinen Ausprägung der Pulpahörner zur Messung erfasst wurde. Übereinstimmend mit Prost et al. wurde eine große Streuung der gemessenen Strecke zwischen Zahnpulpa und Facies occlusalis gefunden (Prost et al., 2014). Ferner empfehlen diese Autoren (Prost et al., 2014) aufgrund der Streuung umsichtig beim Abschleifen von Schneidezähnen zu sein um die Gefahr einer Pulpaeröffnung zu vermeiden.

Es wurde in dieser Arbeit nicht nur der Abstand der Pulpahörner zur Facies occlusalis gemessen, sondern auch der Abstand zur Facies labialis. Dieser wurde auf horizontalen Schnittebenen auf der Höhe der okklusal gelegenen Spitzen der Pulpahörner gemessen. Unsere Ergebnisse zeigten eine Zunahme dieser Abstände mit steigendem Zahnalter. Dies stimmt somit mit Untersuchungen von Muylle et al. überein, nach deren Beobachtung das Zahnsternchen (sichtbarer Punkt des von der Zahnpulpa gebildeten Sekundärdentins an der Kaufläche) mit dem Alter an der Facies occlusalis weiter nach innen rückt (Muylle et al., 2002). Der Abstand der Zahnpulpa zur Facies labialis ist ebenfalls beim Abschleifen der Schneidezähne relevant, da häufig nach einem planen Abschleifen der Kaufläche, die labiale Kante der Kaufläche abgerundet wird. Aufgrund der gemessenen Abstände von 3,7 mm und größer besteht durch das leichte Abrunden der labialen Schmelzkante jedoch keine Gefahr einer Pulpaeröffnung.

In dieser Arbeit konnten leider im Rahmen der statistischen Auswertung keine Unterschiede bezüglich der einzelnen Zahnpositionen zueinander festgehalten werden. Es wurde lediglich für die gemessenen Abstände zur Facies occlusalis zwischen den Positionen 01 und 03 im Oberkiefer ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt und deswegen eine umfassende Beschreibung der Abstände aller Zahnposition nicht weiter beschrieben. Um hier genauere Aussagen zur einer Abhängigkeit der Abstände bezüglich der Zahnpositionen treffen zu können, sind somit weitere Untersuchungen mit einer größeren Anzahl an Zähnen notwendig. Des Weiteren war nicht bekannt, ob bei den Pferden, von denen die untersuchten Zähne stammten, eine regelmäßige Zahnbehandlung durchgeführt wurde. In der Zahnpulpa sorgen spezielle Zellen, sogenannte Odontoblasten für die Sekundärdentinproduktion und einen Verschluss der Zahnpulpa gegenüber dem



kontinuierlichen Abrieb von okklusal. Somit wirkt sich die Höhe der Sekundärdentinproduktion direkt auf den gemessenen Abstand der Zahnpulpa zur Facies occlusalis (subokklusale sekundäre Dentindicke) aus. In der Literatur wird ein multifaktorieller Einfluss auf die Sekundärdentinproduktion der Odontoblasten beschrieben (Dixon, 2002; White und Dixon, 2010). Diese Einflüsse auf die Sekundärdentinproduktion sollen zum Teil von Kräften auf die Kaufläche beeinflusst werden (Dixon, 2002; White und Dixon, 2010; Marshall et al., 2012). Beim Abschleifen von Schneidezähnen kommt es durch die Kürzung mutmaßlich zu einer direkten Druckverringerung von okklusal und somit zu einem möglichen, veränderten Einfluss auf die Odontoblasten und folglich auf die Sekundärdentinproduktion. Es ist daher möglich, dass ein Teil der in unserer Arbeit gemessenen Strecken durch eine Zahnbehandlung beeinflusst worden sind. Ferner reichte der Stichprobenumfang der untersuchten Zähne nicht aus, um Rasse und Geschlechter spezifische Unterschiede feststellen zu können. Somit wären weitere Studien mit einer höheren Anzahl an Pferden wünschenswert, um die Abhängigkeit der Abstände zwischen der Zahnpulpa und der Facies occlusalis von verschiedenen Faktoren wie Zahnbehandlungen, Rasse und Geschlecht zu untersuchen.

#### **4.3 Fazit**

Abschließend lässt sich festhalten, dass sich der Einsatz der hochauflösenden  $\mu$ CT zur morphologischen Untersuchung an Pferde Zähnen aufgrund der aussagekräftigen Ergebnisse in dieser Arbeit bewährt hat. So konnte mit den Untersuchungen an Backenzähnen gezeigt werden, dass sich die strukturelle Zusammensetzung der Zahnhartsubstanzen Zement, Dentin und Schmelz entlang der Längsachse der Backenzahnkrone beim domestizierten Pferd signifikant unterscheidet. Diese Untersuchungen im Submillimeterbereich wären mit der konventionellen CT oder bei einer makroskopischen Untersuchung nicht mit der gleichen Präzision möglich gewesen. Auch bei den morphologischen Untersuchungen an Schneidezähnen hat sich der Einsatz der  $\mu$ CT bewährt. So konnte nichtinvasiv anhand der rekonstruierten 3D Modelle die Zahnpulpa visualisiert und präzise gewisse Abstände erfasst werden. Diese Untersuchung im Submillimeterbereich wäre mit der konventionellen CT oder bei einer makroskopischen Untersuchung ebenfalls nicht mit der gleichen Präzision

möglich gewesen. Unsere Erkenntnisse zur Lokalisation und Anzahl der Pulpahörner und der Abstände der Pulpa zur Facies occlusalis und Facies labialis tragen insbesondere für eine klinische Anwendung im Rahmen einer Zahnbehandlung zu neuen anatomisch-morphologischen Erkenntnissen bei.

## 5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es komplexe, morphologische Fragestellungen an Pferde Zähnen mit Hilfe von  $\mu$ CT und einer Bildanalysesoftware zu untersuchen und zu beantworten. Hierbei wurden in dieser Arbeit  $\mu$ CT Aufnahmen von insgesamt 36 Ober- und Unterkieferbackenzähnen (Positionen 07 - 10) mittels einer Bildanalysesoftware untersucht. Zunächst wurde die individuelle Kronenlänge jedes einzelnen Zahnes anhand zweier  $\mu$ CT Bilder ausgewählt. Das am weitesten apikal gelegene Schnittbild, welches noch einen vollständigen peripheren Schmelzring auf den Aufnahmen zeigt, wurde als Beginn der Zahnkrone definiert. Im Anschluss wurden von dem am apikal gelegensten Schnittbild in 10 mm Schritten bis zu Kaufläche hin, Schnittbilder für die weitere Vermessung ausgewählt. Das am weitesten okklusal gelegene Schnittbild, welches noch einen vollständigen peripheren Schmelzring auf den Aufnahmen zeigte, wurde als Ende der Zahnkrone definiert. Danach wurden für jeden zu untersuchenden Backenzahn auf den zuvor ausgewählten Schnittbildern die Substanzen Dentin, Schmelz und Zement anhand der unterschiedlichen Grauwerte identifiziert und auf den  $\mu$ CT Aufnahmen markiert. Die so ermittelten Mengen in  $\text{mm}^2$  wurden auf eine statistische Zu- oder Abnahme entlang der Längsachse der Zahnkrone hin untersucht. Es wurden aufgrund der Ähnlichkeit in der Morphologie die Zähne der Positionen 07 - 10 zusammengefasst und jeweils getrennt nach Ober- und Unterkiefer untersucht. Sowohl in den untersuchten Oberkieferbackenzähnen als auch in den untersuchten Unterkieferbackenzähnen nahm dabei die Schmelzmenge von okklusal nach apikal ab, während die Menge an Dentin um etwa den selben Betrag zunahm. Diese Ergebnisse konnten sowohl in den absoluten als auch in den relativen Berechnungen bestätigt werden. So lässt sich festhalten, dass sich die Zusammensetzung aus Schmelz, Dentin und Zement an den Kauflächen bereits nach der Eruption des Zahnes mit dem Alter kontinuierlich für *Equus caballus* ändert.

Der Fokus im zweiten Teil dieser Arbeit lag hingegen auf morphologischen Untersuchungen an equinen Schneidezähnen. So wurden mittels  $\mu$ CT Aufnahmen von 51 Oberkiefer- und 50 Unterkieferschneidezähnen 3D Modelle mit einer Software anhand der spezifischen Grauwerte der einzelnen Zahnschubstanzen generiert. Im

Anschluss daran wurde die Konfiguration der Zahnpulpa untersucht. Dabei konnten zuvor beschriebene Beobachtungen, nach dem sich die Pulpa in zwei Pulpahörner, labiomesial und labiodistal zum Infundibulum gelegen aufteilt, bestätigt werden (Dixon et al., 2013; Schrock et al. 2013c; Staszyk et al., 2015). Jedoch zeigte sich dabei auch, dass nicht immer zwei Pulpahörner, insbesondere in Unterkieferschneidezähnen der Zahnposition 03, ausgebildet waren. Neben der Konfiguration der Zahnpulpa, wurden ferner die Abstände der Pulpahörner zur Facies occlusalis als auch zur Facies labialis gemessen. Die Abstandsmessung erfolgte anhand von Hilfslinien und Schnittebenen. Es wurde zunächst durch vier ausgewählte Schnittpunkte am Zahnschmelz der Facies occlusalis (labial, mesial, distal, lingual / palatinal) eine Schnittebene konstruiert, zu dieser wurde parallel eine zweite Schnittebene auf Höhe des Dentins der Facies occlusalis konstruiert. Im Anschluss wurden zwei horizontal zur Zahnachse gelegene Schnittebenen auf der Höhe der Spitze der Pulpahörner konstruiert. Die Messung der Abstände zur Facies occlusalis erfolgte somit zwischen den Schnittebenen der Pulpahörner und der Schnittebene auf Höhe des Dentins der Facies occlusalis. Zur Messung der Abstände zwischen Pulpa und Facies labialis wurden Hilfslinien als Tangenten an der labialen Schmelzfläche auf Höhe der Pulpahörner konstruiert. Im Anschluss wurde die Strecke zwischen der Spitze des jeweiligen Pulpahorns im 90-Grad Winkel zu diesen Hilfslinien gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass die Abstände zur Facies occlusalis mit dem Alter abnahmen, während die Abstände zur Facies labialis mit dem Alter zunahmen. Die Ergebnisse der Strecke der Pulpahörner zur Facies occlusalis sind für die Pferde Zahnbehandlung von besonderer Bedeutung, da häufig Zahnmaterial von der Kaufläche der Schneidezähne abgetragen wird (Rawlinson und Early, 2013; Foster, 2013). Bei dieser Kürzung kann es jedoch zu einer Pulpaeröffnung kommen (Rucker, 2004). Es ist deshalb für den Behandler wichtig, Kenntnisse über die Abstände der Zahnpulpa zu der Facies occlusalis zu haben. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die gemessenen Werte eine erhebliche Streuung aufwiesen. Aufgrund dieser Streuung und einzelner gemessener Werte von unter 1 mm, ist sicherlich ein restriktives umsichtiges Kürzen bei einer Zahnbehandlung indiziert. Nach den gemessenen Abständen der Pulpahörner zur Facies labialis besteht bei einem leichten Abrunden der labialen Kante nach einer Kürzung der Schneidezähne bei einer Zahnbehandlung keine Gefahr einer

Pulpaexposition, da die Werte dieser Strecke bei mindestens 3,7 mm in den zu untersuchten Schneidezähnen lagen.

Abschließend lässt sich festhalten, dass sich der Einsatz von  $\mu$ CT Aufnahmen durch die hohe, detailgetreue Auflösung bei der Beantwortung der offenen Fragestellungen am Pferdegebiss aufgrund der aussagekräftigen Ergebnisse beider Studien bewährt hat. Es konnte somit gezeigt werden, dass sich die Substanzverteilung entlang der Backenzahnkrone – und einhergehend damit mit dem Alter an der Kaufläche – für *Equus caballus* ändert. Diese Ergebnisse tragen somit zu neuen morphologischen Kenntnissen an Pferde Zähnen bei. Ferner wurde eine erhebliche Streuung der Abstände der Zahnpulpa zur Facies occlusalis und Facies labialis festgestellt. Dies hat eine direkte Relevanz für den Behandler, vorsichtig und restriktiv bei einer Schneidezahnkürzung im Rahmen einer Zahnbehandlung vorzugehen.

## 6 Summary

The aim of this study was to investigate complex morphological hypothesis on equine teeth with  $\mu$ CT and an image analysis software. First,  $\mu$ CT images of a total of 36 upper and lower jaw teeth (position 07-10) were examined by means of an image analysis software. Second, the individual crown length of each tooth was selected using two  $\mu$ CT images. The most apical cross-sectional image, which still displayed a complete peripheral enamel ring, was defined as the beginning of the dental crown. Next, cross-sectional images for further measurement were selected from the most apical cross-sectional image in steps of 10 mm up to the occlusal surface. The most occlusal cross-sectional image, which still displayed complete peripheral enamel on the images, was defined as the end of the tooth crown. Thereafter, the tooth substances dentin, enamel and cementum for each cheek tooth were identified on the previously selected cross-sectional images to be examined on the basis of the different gray values and marked on the  $\mu$ CT images. The quantities thus determined in  $\text{mm}^2$  were statistically analyzed for an increase or decrease along the longitudinal axis of the tooth crown. Due to their similarity in morphology, the teeth of positions 07 - 10 were combined and examined separately for the upper and lower jaw. In teeth of the upper and lower jaw, the amount of enamel decreased from occlusal to apical, while the amount of dentine increased. These results were confirmed in absolute and relative calculations. Therefore, the composition of enamel, dentin and cementum at the occlusal surface changes continuously after the eruption of the tooth for *Equus caballus*.

In the second part of this study equine incisors were assessed. Therefore, 3D models of the incisors via  $\mu$ CT images of 51 upper jaw incisors and 50 lower jaw incisors were generated with a software based on the specific gray values of the individual tooth substances. Subsequently, the configuration of the pulp cavity was examined. Observations by other authors, that the pulp cavity divides into two pulp horns, labiomesial and labiodistal to the infundibulum were confirmed (Dixon et al., 2013; Schrock et al. 2013c; Staszuk, et al., 2015). However, we described in addition to these observations that not necessarily two pulp horns, especially in mandibular outer teeth exist. Furthermore, the distances of the pulp horns to the facies occlusalis as well as to the facies labialis were measured. The measurements of the distances

were based on virtual auxiliary lines and reference planes. First, a plane was constructed by four enamel reference point at the occlusal surface of the tooth (labial, mesial, distal, lingual / palatal). Second, a plane was constructed parallel to this previously selected plane on the height of the displayed dentine at the occlusal surface, referring to as the dentinal occlusal plane. Subsequently, two reference planes on a horizontal level to the tooth axis were constructed at the level of the pulp horn tips. The measurement of the distance between the pulp cavity and the facies occlusalis was thus carried out between the pulp horn tip reference planes and the dentinal occlusal reference plane of the facies occlusalis. In Order to measure the distances between the pulp cavity and the facies labialis, auxiliary lines were constructed perpendicular to the labial enamel surface at the height of the individual pulp horns. Next the distance between the tip of the respective pulp horn was measured at a 90-degree angle to these auxiliary lines. We noted a decrease with age of the distances between the pulp cavity and the facies occlusalis, while the distances between the pulp cavity to facies labialis increased with age. The results of the measured distances are important for equine dentistry, as tooth substance is often removed from the occlusal surface of the incisors during dental treatment procedures (Rawlinson and Earley, 2013; Foster, 2013). However, incisor reduction may result in pulp exposure (Rucker, 2004). Hence detailed anatomical knowledge the distance between the pulp cavity and occlusal surface is necessary. We stated that the measured values were of considerable variance. Due to this variance and individual measured values of less than 1 mm, great care should be exercised by any practitioner during incisor reduction. A slight rounding off of the labial edge after incisor reduction during a dental treatment does not pose a risk of pulpal exposure, since the measured values of the distance between the pulp cavity and the facies labialis were higher than 3.7 mm in the examined incisor.

In conclusion, the methodical approach with high resolution  $\mu$ CT images in both studies was successful in order to investigate complex morphologic hypothesis. We stated, that the ratio of the tooth substances along the tooth crown of equine cheek teeth – and thus with the age at the occlusal surface – changes for *Equus caballus*. These results contribute to further morphological knowledge on horse teeth. Furthermore, we stated a considerable variation in the distances of the dental pulp

cavity to the facies occlusalis and facies labialis. These results are of importance for dental treatment procedures.



## 7 Literaturverzeichnis

Allen T. (Ed) "Dental Tools and Equipment" In: Manual of Equine Dentistry: Muleicorn Press, USA. pp 17-41.

Aristoteles, 350 v. Chr. Historia Animalum. Translated by D'Arcy Wentworth Thompson. The Internet Classic Archive.  
[http://classics.mit.edu/Aristotle/history\\_anim.mb.txt](http://classics.mit.edu/Aristotle/history_anim.mb.txt).

Becker, E., 1938. Neuzeitliche Untersuchung und Behandlung der Zahnerkrankungen beim Pferd. M. & H. Schaper Verlag. Hannover.

Bettiol, N. and P. M. Dixon, 2011. 'An anatomical study to evaluate the risk of pulpar exposure during mechanical widening of equine cheek teeth diastemata and 'bit seating'', Equine Veterinary Journal , 43: 163-69.

Bühler, M., A. Fürst, F. I. Lewis, M. Kummer, S. Ohlerth, 2014. 'Computed tomographic features of apical infection of equine maxillary cheek teeth: a retrospective study of 49 horses', Equine Veterinary Journal, 46: 468-73.

Caldwell, R. C., M. L. Muntz, R. W. Gilmore, W. Pigman, 1957. 'Microhardness studies of intact surface enamel', Journal of Dental Research, 36: 732-38.

Casey, M. B., G. R. Pearson, J. D. Perkins, W. H. Tremaine, 2015. 'Gross, computed tomographic and histological findings in mandibular cheek teeth extracted from horses with clinical signs of pulpitis due to apical infection', Equine Veterinary Journal, 47: 557-67.

Craig, R. G. and Peyton F. A., 1958. 'The micro-hardness of enamel and dentin', Journal of Dental Research, 37: 661-68.

Dacre, I., S. Kempson, P. M. Dixon, 2008a. 'Pathological studies of cheek teeth apical infections in the horse: 5. Aetiopathological findings in 57 apically

- infected maxillary cheek teeth and histological and ultrastructural findings', *Veterinary Journal*, 178: 352-63.
- Dacre, I. T., S. Kempson, P. M. Dixon, 2008b. 'Pathological studies of cheek teeth apical infections in the horse: 1. Normal endodontic anatomy and dentinal structure of equine cheek teeth', *Veterinary Journal*, 178: 311-20.
- Dixon, P. M. and A. N. Copeland, 1993. 'The radiological appearance of mandibular cheek teeth in ponies of different ages', *Equine Veterinary Education*, 5: 317-23.
- Dixon, P. M., 2002. 'The Gross, Histological, and Ultrastructural Anatomy of Equine Teeth and Their Relationship to Disease' *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP*, 48, 21-437.
- Dixon, P. M. and V. Nicholls, 2016. 'Science in brief: Keeping up progress with equine dental research', *Equine Veterinary Journal*, 48: 537-39.
- Dixon, P. M., N. Du Toit, C. Staszky, 2013. 'A fresh look at the anatomy and physiology of equine mastication', *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 29: 257-72.
- Du Toit, N., S. A. Kempson, P. M. Dixon, 2008a. 'Donkey dental anatomy. Part 1: Gross and computed axial tomography examinations', *Veterinary Journal*, 176: 338-44.
- Du Toit, N., B. Bezensek, P. M. Dixon, 2008b. 'Comparison of the microhardness of enamel, primary and regular secondary dentine of the incisors of donkeys and horses', *Veterinary Record*, 162: 272-75.
- Easley, J., 2011. 'The History of Equine Dentistry.' in J. Easley, P. M. Dixon and J. Schumacher (eds.), *Equine Dentistry*. 3<sup>rd</sup> ed. Saunders Elsevier. pp 11-27.

- Easley, J., 2013. Advances in equine dentistry. In: The Veterinary clinics of North America. Equine Practice, 29: 257-540.
- Fahrenkrug, P., 2005. 'The history and future of equine dental care.' In Proceeding of the North American Veterinary Conference. Orlando.
- Floyd, M.R., 1991. 'The modified Triadan system: nomenclature for veterinary dentistry.' Journal Veterinary Dentistry; 8, 18-19.
- Foster, D. L., 2013. 'The gold standard of dental care for the adult performance horse', The Veterinary clinics of North America. Equine practice, 29: 505-519.
- Griffin, C., 2013. 'The gold standard of dental care: the juvenile horse', The Veterinary clinics of North America. Equine practice, 29: 487-504.
- Günther, K.; Günther, F., 1859. Die Beurtheilungslehre des Pferdes. Bezüglich dessen Dienst-, Zucht- und Handelswerthes. Nebst einem Anhang über die Lehre von den gesunden und kranken Zähnen. Hahn Verlag. Hannover.
- Hoppe, K. A., S. M. Stover, J. R. Pascoe, R. Amundson, 2004. 'Tooth enamel biomineralization in extant horses: implications for isotopic microsampling', Incremental Growth in Vertebrate Skeletal Tissues: Paleobiological and Paleoenviromental Implications, 206: 355-65.
- Kilic, S., P. M. Dixon, S. A. Kempson, 1997a. 'A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues of horses: 1. The occlusal surface and enamel thickness', Equine Veterinary Journal, 29: 190-97.
- Kilic, S., P. M. Dixon, S. A. Kempson, 1997b. 'A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues of horses: 2. Ultrastructural enamel findings', Equine Veterinary Journal, 29: 198-205.

- Kilic, S., P. M. Dixon, S. A. Kempson, 1997c. 'A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues of horses: 3. Dentine', *Equine Veterinary Journal*, 29: 206-12.
- Kilic, S., P. M. Dixon, S. A. Kempson, 1997d. 'A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues on horses: 4. Cement and the amelocemental junction', *Equine Veterinary Journal*, 29: 213-9.
- Klugh, D. O., 2003. "Equine incisor pulp canals: a closer look." In 17th Annual Veterinary Dental Forum, San Diego, USA, 200-202.
- Klugh, D.O., 2010. Principles of Occlusal Equilibration. In: Principles of Equine Dentistry, 1<sup>st</sup> ed, Manson Publishing, London. pp 69-78.
- Kopke, S., N. Angrisani, C. Staszyk, 2012. 'The dental cavities of equine cheek teeth: three-dimensional reconstructions based on high resolution micro-computed tomography', *BMC Veterinary Research*, 8: 173.
- Kunkemöller, I., 2001. "Prof. Dr. med. vet. Erwin Becker (1898-1978) Leben und Werk." Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Listmann, L., P. Schrock, K. Failing, C. Staszyk, 2016. 'Occlusal angles of equine cheek teeth', *Livestock Science*. Volume 186, 78-84
- Listmann, L., P. Schrock, K. Failing, C. Staszyk, 2017. 'Occlusal Angles of Equine Incisors', *Journal Veterinary Dentistry*, 34: 259-67.
- Liuti T., Reardon R., Dixon P. M., 2017. Computed tomographic assessment of equine maxillary cheek teeth anatomical relationships, and paranasal sinus volumes. *Veterinary Record*. 181(17), 452.
- Mair, L. H., 1992. 'Wear in dentistry-current terminology', *Journal of Dentistry*, 20: 140-44.

- Marshall, R., D. J. Shaw, P. M. Dixon, 2012. 'A study of sub-occlusal secondary dentine thickness in overgrown equine cheek teeth', *Veterinary Journal*, 193: 53-57.
- Mizutani, R. and Y. Suzuki, 2012. 'X-ray microtomography in biology', *Micron*, 43: 104-115.
- Muyllé, S., P. Simoons, H. Lauwers, 2001. 'The distribution of intratubular dentine in equine incisors: a scanning electron microscopic study', *Equine Veterinary Journal*, 33: 65-69.
- Muyllé, S., P. Simoons and H. Lauwers, 2002. 'A study of the ultrastructure and staining characteristics of the 'dental star' of equine incisors', *Equine Veterinary Journal*, 34: 230-234.
- Muyllé, S., P. Simoons, R. Verbeeck, M. T. Ysebaert, H. Lauwers, 1999. 'Dental wear in horses in relation to the microhardness of enamel and dentine', *The Veterinary Record*, 144: 558-561.
- Prost, M.L., A. Nowicka, D. Lichota, K. Wozniak, W. Dura, M. Lipski, 2014. 'Assessment of subocclusal secondary dentin thickness in equine incisors.', *Medycyna Weterynaryjna* : 502-507.
- Rawlinson, Jennifer T. and Edward Earley, 2013. 'Advances in the treatment of diseased equine incisor and canine teeth', *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 29: 411-420.
- Rucker, B. A., 2004. 'Equine cheek teeth angle of occlusion: How to calculate and clinical use for incisor shortening', *Equine Veterinary Education*, 16: 137-142.
- Schröck, C., 2015. "Messung von Eruptionsraten der Backenzähne." IGFP Kongress, Nierdernhausen.

- Schrock, P., M. Lüpke, H. Seifert, L. Borchers, C. Staszky. 2013a. 'Finite element analysis of equine incisor teeth. Part 1: determination of the material parameters of the periodontal ligament', *Veterinary Journal*, 198: 583-9.
- Schrock, P., M. Lüpke, H. Seifert C., Staszky. 2013b. 'Finite element analysis of equine incisor teeth. Part 2: investigation of stresses and strain energy densities in the periodontal ligament and surrounding bone during tooth movement', *Veterinary Journal*, 198: 590-8.
- Schrock, P., M. Lüpke, H. Seifert, C. Staszky. 2013c. 'Three-dimensional anatomy of equine incisors: tooth length, enamel cover and age related changes', *BMC Veterinary Research*, 9: 249.
- Shaw, D. J., I. T. Dacre, P. M. Dixon. 2008. 'Pathological studies of cheek teeth apical infections in the horse: 2. Quantitative measurements in normal equine dentine', *Veterinary Journal*, 178: 321-32.
- Simon von Athen. 480 v. Chr. „Zoologische Schriften über das Pferd“ in Fragment von Xenophon. Hochschule Augsburg. [https://www.hs-augsburg.de/~harsch/graeca/Chronologia/S\\_ante05/Simon/sim\\_hipp.html](https://www.hs-augsburg.de/~harsch/graeca/Chronologia/S_ante05/Simon/sim_hipp.html).
- Staszky, C. 2011. 'Anatomie' in: Vogt, C. (Ed.), *Lehrbuch der Zahnheilkunde beim Pferd*. 1st ed. Schattauer, Stuttgart, pp 1-30.
- Staszky, C. 2015. 'Zähne und Gebiss des Pferdes - eine klinisch-anatomische Übersicht', *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 43: 375-86.
- Staszky, C., A. Suske, A. Pöschke. 2015. 'Equine dental and periodontal anatomy: A tutorial review', *Equine Veterinary Education*, 27: 474-81.

- Suske, A., A. Pöschke, P. Schrock, S. Kirschner, M. Brockmann, C. Staszyk. 2016a. 'Infundibula of equine maxillary cheek teeth. Part 1: Development, blood supply and infundibular cementogenesis', *Veterinary Journal*, 209: 57-65.
- Suske, A., A. Poschke, P. Muller, S. Wober, C. Staszyk. 2016b. 'Infundibula of equine maxillary cheek teeth: Part 2: Morphological variations and pathological changes', *Veterinary Journal*, 209: 66-73.
- Triadan, H., 1972. Tierzahnheilkunde: Zahnerhaltung (Füllungstherapie mit 'Composite materials' und Endodontie) bei Affen und Raubtieren. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 114, 292-316.
- White, C. and P. M. Dixon, 2010. 'A study of the thickness of cheek teeth subocclusal secondary dentine in horses of different ages', *Equine Veterinary Journal*, 42: 119-23.
- Williams, J. R., 2005. "Handbuch der ärztlichen Ethik." Weltärztebund (Herausgeber). Cedex. Frankreich.
- Winkler, D. E. and T. M. Kaiser, 2015. 'Structural Morphology of Molars in Large Mammalian Herbivores: Enamel Content Varies between Tooth Positions', *Plos One*, 10: e0135716.
- Winkler, D. E., T. M. Kaiser, L. Wilson. 2015. 'Uneven distribution of enamel in the tooth crown of a Plains Zebra (*Equus quagga*)', *Peer Journal* 3: e1002.

## 8 Publikationsverzeichnis

Ergebnisse dieser Dissertation wurden in international anerkannten Fachzeitschriften mit Gutachtersystem (peer review) zur Veröffentlichung angenommen:

- **Uneven distribution of enamel, dentine and cementum in cheek teeth of domestic horses (*Equus caballus*): A micro computed tomography study**

L. Englisch, K. Kostrzewa, S. Kopke, K. Failing, C. Staszuk

Veröffentlicht: 16. August, 2017 in Plos One

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183220>

- **Anatomy of equine incisors: pulp horns and subocclusal dentine thickness**

L. Englisch, P. Schrock, M. Lüpke, H. Seifert, C. Staszuk

Akzeptiert: 14. März, 2018 im Equine Veterinary Journal

DOI: 10.1111/evj.12841



Teilergebnisse dieser Dissertation wurden auf folgenden Fachkongressen präsentiert:

**Posterbeiträge:**

- **Quantitative Erfassung der Zahnsubstanzen in verschiedenen Horizontalebene von equinen Backenzähnen – eine Micro-CT Studie**

L. Englisch, K. Kostrzewa, S. Kopke, K. Failing, C. Staszuk

IGFP Kongress, Niedernhausen 10 / 11. März 2017 (ISBN 973-3-00-055915-0).

**Vorträge:**

- **Distribution of tooth substances in cheek teeth of domestic horses**

L. Englisch\*, K. Kostrzew, S. Kopke. K. Failing. C. Staszuk

European Congress of Veterinary Dentistry, Málaga, Spanien, 19. - 21. Mai 2017.

- **Morphology of the dental pulp in equine incisors**

L. Englisch\*, P. Schrock, M. Lüpke, C. Staszuk

European Congress of Veterinary Dentistry, Málaga, Spanien, 19. - 21. Mai 2017.

- **Morphologie der Pulparäume in Schneidezähnen - Abstände der Pulpahörner zur Facies occlusalis und Facies labialis**

L. Englisch\*, P. Schrock, M. Lüpke, H. Seifert, C. Staszuk

IGFP Kongress, Niedernhausen, 9 / 10. März 2018 (ISBN 973-3-00-057640-9).

\* Referent

## 9 Erklärung

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Arbeit, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

## 10 Danksagung

Und ein herzliches Dankeschön geht an:

Carsten Staszyk für die sehr gute Betreuung dieser Arbeit, seine Geduld mit mir, das ständige offene Ohr und die konstruktiven Diskussionen und Ratschläge. Dein Fachwissen hat nicht nur maßgeblich zur gelungenen Promotion und Publikation beigetragen, sondern auch mein Verständnis für viele Sachverhalte in der Zahnheilkunde bereichert.

Eva-Maria Mennicke mir während der Promotion den Anschluss an die veterinärmedizinische Praxis ermöglicht zu haben. So konnte ich hervorragendes wissenschaftliches und praktisches Arbeiten zeitgleich realisieren.

Kathrin und Patricia. Ohne eure Einarbeitung, Hilfestellungen und Zusammenarbeit wären die Paper nicht zustande gekommen.

Hannah, Carmen, Basti, Jörg, Kevin, Laura und Antje für die durchgehend schöne Arbeitsatmosphäre in der AG.

Klaus Failing, Andreas Schaubmar und Matthias Lüpke für die gute Betreuung bezüglich der statistischen Auswertung der Publikationen.

Meiner Familie für die Unterstützung während meines Studiums und der Promotion. Und auch für meine schöne Kindheit.

Muchas gracias a mi guapo. Sin esta tesis, no nos habiéramos conocido en Málaga. Y sin tu ayuda, este proyecto no hubiera sido tampoco posible.